

Prof. dr hab. inż. Stanisław Baran
Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii
i Kształtowania Środowiska
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec pt. „Ocena możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności wybranych fitotechnologii w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami” wykonanej w Zakładzie Mikrobiologii Rolniczej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

1. Podstawa formalno-prawna wykonania recenzji

Podstawą do opracowania recenzji jest pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach Prof. dr hab. Janusza Podleśnego informujące, że Rada Naukowa IUNG-PIB w Puławach w wyniku głosowania elektronicznego w dniu 08.11.2022 r. i Uchwałą nr 32/2022 z dnia 8 listopada 2022 r., wyznaczyła mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec pt. „*Ocena możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności wybranych fitotechnologii w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami*”, której promotorem jest prof. dr hab. Tomasz Stuczyński. Rozprawa doktorska wchodzi w zakres dziedziny nauk rolniczych, dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo.

Recenzję wykonano w oparciu o przepisy prawne: Ustawa z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. 2016 r., poz. 882), zgodnie z art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) i Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 roku w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz.U. 2018 poz. 1818).

2. Ocena problematyki badawczej rozprawy

Rozwój gospodarczy i stale zwiększająca się produkcja oprócz produktu oczekiwanego, generuje znaczne ilości odpadów wymagających zagospodarowania lub unieszkodliwiania. Uwzględniając właściwości oraz skład chemiczny odpadów, wiele z nich jest wykorzystywane w różnych działach gospodarki, co wpisuje się w nowoczesną i bardzo

potrzebną gospodarkę obiegu zamkniętego. Są jednak odpady o ekstremalnie wysokich zawartościach metali (Zn, Pb, Cd, As), powstające w hutach, głównie cynku i ołowiu, na które nie ma zapotrzebowania w gospodarce, a powszechnym sposobem ich unieszkodliwiania jest składowanie na wysypiskach. Problem ten notowany jest od wielu lat na obszarach o dużym zagęszczeniu przemysłu hutniczego, a przykładem jest teren Górnego Śląska. Składowiska te, wskutek erozji wietrznej i wodnej, powodują silne zanieczyszczenie gleb, wód, roślin i łańcucha troficznego metalami ciężkimi. Koniecznością jest poddanie ich rekultywacji technicznej i biologicznej (wprowadzenie roślin), co zredukuje rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń oraz zainicjuje proces glebotwórczy powstawania gleby technogenicznej. Proces ten jest niezwykle trudny, stąd powinien opierać się na podstawach naukowych, co jest podstawą strategii *gospodarki opartej na wiedzy*.

Sposobem rekultywacji składowisk odpadów pohutniczych o wysokiej/toksycznej zawartości metali ciężkich i niebilansowanych właściwościach (zawartość pierwiastków nawozowych, substancji organicznej, odczyn itp.), jest wykonanie rekultywacji technicznej - wspomaganiej, z wykorzystaniem dodatków użyźniających np. kompostów, osadów ściekowych, co stworzy korzystne warunki do wzrostu roślin i procesu tworzenia się gleby.

Rośliny wyższe odgrywają bardzo ważną rolę w procesie tworzenia się gleb i kształtowaniu ich właściwości, co trafnie określił Terlikowski "*nie ma gleby bez udziału, jako czynnika glebotwórczego, roślinności*". Równie ważną, ale niedocenianą i słabo rozpoznaną rolę w powstawaniu i kształtowaniu właściwości gleb spełnia mikroflora (fitoedafon), co wynika z jej udziału w procesach humifikacji i mineralizacji szczątków organicznych oraz w biochemicznych procesach przetwarzania mineralnej części gleby np. wietrzenie minerałów. Prawidłowo wykonana rekultywacja techniczna stwarza odpowiednie warunki do realizacji fazy biologicznej, której skuteczność oceniana jest głównie w oparciu o właściwości chemiczne, fizyczno-chemiczne powstającej gleby/podłoża oraz ilość i jakość pozyskiwanej biomasy roślin. Ocena różnorodności biologicznej mikroorganizmów jest fragmentaryczna, uwzględniająca najczęściej aktywność enzymatyczną oraz ogólną liczebność wybranych grup bakterii i dotyczy krótkiego, najczęściej 3-letniego okresu. Jak wykazują wyniki dotychczasowych badań, jest to okres zbyt krótki, szczególnie na obiektach silnie zdegradowanych chemicznie, aby racjonalnie ocenić proces remediacji oraz kierunki kształtowania się właściwości tworzącej się gleby.

W powyższy świetle realizowane przez mgr inż. Sylwię Siebielec badania zaprezentowane w rozprawie doktorskiej dotyczące oceny wpływu wieloletniego procesu fitoremediacji na aktywność biologiczną, występowanie grup bakterii o określonych

funkcjach (bakterie wiążące azot z powietrza, bakterie biorące udział w przemianach fosforu) w tworzącej się glebie technogenicznej na silnie zanieczyszczonych odpadach pohutniczych oraz określenie możliwości stosowania szczepionek na bazie odpornych mikroorganizmów w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami ciężkimi uważam za innowacyjne bardzo potrzebne. Uzyskana nowa wiedza będzie przydatna do likwidacji negatywnego oddziaływania na środowisko składowisk odpadów silnie zanieczyszczonych, racjonalnego zarządzania terenami zdegradowanymi, a także na terenach rolnych, do bezpiecznej i zrównoważonej produkcji roślinnej i jej adaptację do zmian klimatu.

3. Ocena formalna rozprawy

Tytuł rozprawy w pełni odzwierciedla jej treść i analizowane problemy badawcze.

Rozprawa przedstawiona jest na 219 stronach druku komputerowego, na których oprócz tekstu, zestawienia cytowanej, właściwie dobranej literatury, zamieszczono bogaty materiał dokumentacyjny w postaci: 31 tabel, 50 rysunków i 26 fotografii. Literatura jest bardzo bogata i obejmuje 367 pozycji naukowych, w tym 317 (86%) pozycji zagranicznych, a pozostałe jej pozycje to: akty prawne (1), materiały Komisji Europejskiej (1) i strony internetowe (7).

Całość rozprawy została przedstawiona w siedmiu rozdziałach głównych:

1. Wprowadzenie; 2. Przegląd literatury; 3. Cel i zakres pracy; 4. Hipotezy badawcze; 5. Materiał i metody; 6. Wyniki i dyskusja; 7. Podsumowanie badań, perspektywy badawcze i wnioski. Uzupełnienie stanowią rozdziały: 8. Literatura; 9. Streszczenie rozprawy doktorskiej; 10. Wykaz fotografii, rysunków i tabel; 11. Informacje dodatkowe; 12. Materiały graficzne i skróty; 13. Oświadczenia.

Rozdziały ułożone są w logicznej sekwencji, co sprawia, że rozprawa jest klarownym i monolitycznym opracowaniem naukowym. Wszystkie rozdziały z wyjątkiem 1. Wprowadzenia i 5. Hipotez badawczych, podzielone zostały na tematyczne podrozdziały 1-go, 2-go, a nawet 3-go rzędu, co w warunkach szerokiego zakresu badań i dużej liczebności prezentowanych wyników, jest rozwiązaniem optymalnym i czyni rozprawę przejrzystą, którą studiuje się z zainteresowaniem.

Rozprawa napisana jest starannie i ładnym, polskim językiem. Bogaty materiał dokumentacyjny jest przejrzysty i trafnie dobrany. Statystyczne opracowanie wyników podnosi wartość merytoryczną opracowania, poprzez ich właściwą analizę i sprecyzowanie racjonalnych wniosków.

Podkreślić należy, że badania wykonane w ramach rozprawy doktorskiej zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki, ramach projektu Preludium 9 pt. "**Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych**" (Nr. 2015/17/N/ST10/03182), którego mgr inż. Sylwia Siebielec była kierownikiem.

Za realizację tego projektu mgr inż. Sylwia Siebielec otrzymała **Polską Nagrodę Inteligentnego Rozwoju 2019** w kategorii "**Naukowiec przyszłości**".

4. Ocena merytoryczna rozprawy

Wyniki badań zaprezentowane w rozprawie doktorskiej poszerzają wiedzę dotyczącą roli mikroorganizmów w fitoremediacji składowisk odpadów pohutniczych o ekstremalnie wysokiej zawartości ołowiu, cynku, kadmu i arsenu oraz możliwości ich wykorzystania do zwiększenia efektywności rekultywacji tych obiektów.

W rozdziale "**Wprowadzenie**" Autorka wyjaśnia genezę podjęcia tematu badań, wynikającą z konieczności rekultywacji technicznej i biologicznej składowisk odpadów pohutniczych ekstremalnie zanieczyszczonych metalami (Pb, Zn, Cd, As). Wskazuje, że wysoka zawartość metali oraz niekorzystne właściwości (niska zawartość i przyswajalność pierwiastków nawozowych, brak substancji organicznej, zasolenie, odczyn) tych odpadów, ograniczają wzrost i rozwój roślin, wprowadzonych celem wytworzenia okrywy biologicznej.

Stosowane obecnie metody rekultywacji składowisk odpadów i gleb silnie zanieczyszczonych metalami opierają się na zastosowaniu dodatków ograniczających rozpuszczalność metali oraz poprawiających właściwości fizyczne i zasobność w składniki nawozowe, pod potrzeby wzrostu roślin i ich zdolności fitostabilizacyjnych. Procesy te wspomagane są przez mikroorganizmy, których rola jest słabo rozpoznana i oceniana jest w krótkim, najczęściej 3-letnim okresie, co jest niewystarczające do racjonalnej oceny procesu tworzenia gleby. Jako *novum*, wskazuje na potrzebę opracowania szczepionek na bazie odpornych mikroorganizmów, które zastosowane w rekultywacji odpadów i gleb zanieczyszczonych metalami będą ograniczać mobilność metali ciężkich oraz zwiększać skuteczność dodatków użyźniających co wpłynie korzystnie na wzrost i rozwój roślin.

Uzasadnienie podjętych badań Doktorantka przedstawiła w rozdziale **Przegląd literatury** (47 stron), w oparciu o analizę najnowszej literatury. Zwraca przy tym uwagę, że zwiększające się zanieczyszczenie środowiska (atmosfery, litosfery, biosfery, hydrosfery), powoduje zaburzenia globalnej równowagi ekosystemów i zdrowia ludzi. Emisja różnych, głównie antropogenicznych zanieczyszczeń, postępujące zmiany klimatu, zanik

bioróżnorodności, niewłaściwa gospodarka odpadami, stanowią niechlubną przyczynę rodzącej się epoki - antropocenu.

W dalszej części tego rozdziału Autorka dużo uwagi poświęca pierwiastkom śladowym, głównie metalom ciężkim. Wskazuje ich źródła zanieczyszczenia oraz charakteryzuje negatywne oddziaływanie na środowisko i łańcuch troficzny. Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na gleby, wody, rośliny i łańcuch troficzny - człowieka, omawia na przykładzie ołowiu, kadmu, cynku i arsenu, pierwiastków wiodących w badaniach zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej. Dotyczy to szczególnie obszaru Górnego Śląska, gdzie wieloletnia emisja metali ciężkich przez huty cynku i ołowiu oraz składowanie odpadów zanieczyszczonych tymi pierwiastkami, spowodowała znaczącą degradację gleb i środowiska. Wdrażanie nowych technologii w hutach cynku (np. huta cynku Miasteczko Śląskie), znacząco zmniejszyło emisję tych metali do atmosfery, natomiast powstające i nagromadzone na składowiskach odpady pohutnicze w ilości ponad sto milionów ton na obszarze około 160 km² województwa śląskiego, poprzez erozję wodną i wietrzną, przyczyniają się do intensywnej degradacji środowiska, w tym także terenów użytkowanych rolniczo. Nakreśla to konieczność rekultywacji technicznej składowanych odpadów z wykorzystaniem dodatków użyźniających (komposty, osady ściekowe), co w świetle dotychczasowych badań, poprawia właściwości podłoża pod potrzeby rekultywacji biologicznej - fitoremediacji z wykorzystaniem odpowiednich gatunków roślin oraz mikroorganizmów. Podkreśla jednocześnie, że wśród wielu technik fitoremediacji składowisk odpadów oraz gleb silnie zanieczyszczonych metalami, najbardziej przydatna jest fitostabilizacja. Wdrażanie tych technik napotyka na wiele trudności wynikających z braku dostatecznej wiedzy dotyczącej roli mikroorganizmów w tych procesach. Nawiązując do tego, Doktorantka charakteryzuje udział mikroorganizmów w procesach związanych z przemianami materii organicznej, kształtowaniem przemian składników pokarmowych i ich wpływu na właściwości fizyczne, wzrost i rozwój roślin oraz ochronę przed patogenami. Podkreśla przy tym, że dotychczasowe badania wskazują na ogromną różnorodność bakteryjną gleb, zależną jednak od wielu czynników biotycznych i abiotycznych. Dotyczy to jednak gleb będących w użytkowaniu rolniczym, natomiast w remediacji odpadów i gleb zanieczyszczonych metalami wiedza jest ona wysoce niedostateczna.

Podkreśla również, że dla oceny zabiegów remediacyjnych rekultywowanych odpadów i gleb konieczna jest kompleksowa ocena właściwości mikrobiologicznych. Na tym tle, w oparciu o najnowszą literaturę, szczegółowo omawia rolę aktywności enzymatycznej, ogólnej liczebności wybranych grup bakterii, roli bakterii PBPR, aktywności metabolicznej oraz

sekwencjonowania następnej generacji (NGS). Analiza ta pokazuje, że mgr inż. Sylwia Siebielec posiada profesjonalną wiedzę w metodologii badań mikrobiologicznych.

Treść rozdziału **Przegląd literatury** uwzględnia najnowszą literaturę, trafnie dobraną i ułożoną w logicznej sekwencji, co świadczy o głębokiej wiedzy Doktorantki w omawianej problematyce badawczej i była podstawą do opracowania "**Celu i zakresu pracy**".

Głównym celem badań realizowanych w ramach rozprawy doktorskiej było *rozpoznanie roli mikroorganizmów w fitoremediacji gleb i składowisk odpadów pohutniczych zanieczyszczonych metalami oraz możliwości ich wykorzystania do zwiększenia zabiegów fitoremediacyjnych*. Uszczegółowienie celu głównego stanowią 4 cele szczegółowe dotyczące: **1. Oceny wieloletniego wpływu fitostabilizacji składowiska odpadów z huty cynku i ołowiu w Piekarach Śląskich na aktywność enzymatyczną i metaboliczną bakterii; 2. Identyfikacji i pozyskania mikroorganizmów potencjalnie przydatnych w fitoremediacji; 3. Oceny interakcji pomiędzy różnorodnością i aktywnością mikroorganizmów, a rozwojem roślinności spontanicznej na niezrekultywowanym składowisku odpadów pohutniczych; 4. Oceny możliwości dodatkowego wspomagania fitoremediacji składowisk odpadów pohutniczych przez zastosowanie odpornych na metale bakterii wyizolowanych z różnych zanieczyszczonych obiektów.**

W odniesieniu do celów szczegółowych Doktorantka sformułowała 4 hipotezy badawcze, które zostały zweryfikowane w czasie realizacji badań, będących podstawą rozprawy doktorskiej.

Zakres pracy został podzielony na trzy zadania badawcze, odpowiadające poszczególnym celom i hipotezom badawczym.

- W zadaniu pierwszym (cel 1 i 2) oceniano wpływ 20-letniej rekułtywacji składowiska odpadów żużlu z huty cynku i ołowiu w Piekarach Śląskich na aktywność procesów mikrobiologicznych oraz bioróżnorodność gleby. Ponadto pozyskano i zidentyfikowano bakterie, celem wykorzystania ich potencjału.
- W zadaniu drugim (cel 3) oceniano wpływ niezrekultywowanych składowisk odpadów poflotacyjnych i żużlowych huty cynku w Piekarach Śląskich na ocenę interakcji zachodzących pomiędzy roślinnością, a aktywnością i różnorodnością mikrobiologiczną materiału glebopodobnego.
- W zadaniu trzecim (cel 4) oceniano możliwość dodatkowego wspomagania fitoremediacji odpadów poprzez zastosowanie szczepów bakterii, wyizolowanych wcześniej z obszarów silnie zanieczyszczonych.

Rozdział **Material i metody badań** zamieszczony na 24 stronach, obejmuje charakterystykę obiektów badań oraz wykaz zastosowanych metod i analiz laboratoryjnych.

Obiektem na którym realizowano badania w ramach **zadania nr 1** było składowisko odpadów żużlu z huty cynku i ołowiu w Piekarach Śląskich, które zrehabilitowano w roku 1996, przy wykorzystaniu osadu ściekowego i odpadowego wapna z uzdatniania wód kopalnianych, a następnie w ramach rekultywacji biologicznej, wysiano mieszankę 12 gatunków traw, dobranych profesjonalnie. Obiektami doświadczalnymi były 1 arowe poletka wyznaczone na powierzchni składowiska, na które zastosowano w różnych dawkach i kombinacjach: osad ściekowy ($150-300 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) oraz wapno odpadowe ($100-10000 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$), które realizowano w trzech powtórzeniach. Obiektem porównawczym były poletka bez żadnych dodatków. Z każdego poletka w 2017 roku pobrano zbiorcze próbki gleb (z 20 próbek indywidualnych) do analiz laboratoryjnych.

Obiektem na którym realizowano w roku 2018 **zadanie nr 2**, były niezrehabilitowane składowiska odpadów żużlu oraz odpadów poflotacyjnych, na których wytypowano 8 gatunków roślin samoistnie porastających składowiska; 5 (*Macierzanka piaskowa*, *Lepnica rozdęta*, *Nawłóć pospolita*, *Żmijowiec zwyczajny*, *Szczaw zwyczajny*) na składowisku odpadów poflotacyjnych i 3 (*Dziewanna drobnokwiatowa*, *Nawłóć późna*, *Sadziec konopiasty*) na składowisku żużlu. Do analiz laboratoryjnych pobrano próbki materiału glebopodobnego spod 3 roślin każdego gatunku z głębokości do 15 cm oraz pobrano próbki roślin. Próbki referencyjne pochodziły z odpadów nie pokrytych roślinnością.

Trzecie zadanie badawcze realizowano w doświadczeniu wazonowym w hali wegetacyjnej. Do jego realizacji w 2019 roku z niezrehabilitowanej i nie pokrytej samosiewami roślin części składowiska odpadu żużlu z procesu hutniczego "Waletza", pobrano żużel odpadowy. Do każdego wazonu zastosowano 1 kilogram żużlu i testowane dodatki: kompost z komunalnego osadu ściekowego i miejskich odpadów zielonych w dawce 5% wagi żużlu oraz wymiennie fosforan wapnia w ilości odpowiadającej dawce fosforu 1% wagi żużlu lub tlenek żelaza w dawce 1% wagi żużlu. Podłoża te poddano 3 tygodniowej inkubacji, a następnie wysiano nasiona życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum*). W czasie wschodów roślin (3 tygodnie po siewie), podłoża w każdym wazonie zaszczerpiono (po 100 ml) inokulum bakteryjnym *Streptomyces* (P9, RP92) i *Pseudomonas* (P10). Szczepienie podłoży powtórzono po trzech tygodniach. Obiektem kontrolnym były podłoża bez dodatków i szczepów bakterii oraz bez dodatków, ale ze szczepami bakterii. Każdy oceniany wariant doświadczenia realizowano w 3 powtórzeniach. W okresie trwania doświadczenia dokonano

2-krotnego rejestrowania plonu (g s.m.) biomasy życicy. Na zakończenie badań pobrano próbki podłoża oraz roślin do analiz laboratoryjnych.

Uzyskany z realizowanych zadań badawczych (prace terenowe, doświadczenie wazonowe) materiał został poddany analizom laboratoryjnym dotyczących:

- oceny właściwości fizycznych i chemicznych gleb - podłoża: skład granulometryczny, zawartość substancji organicznej, zawartość węgla i azotu ogólnego, odczyn, zawartość przyswajalnych formy P, K, Mg, całkowitą zawartość P, K, Mg, Ca oraz pierwiastków śladowych, zawartość rozpuszczalnych form pierwiastków śladowych, zawartość azotu amonowego, azotynowego i azotanowego;
- oceny składu chemicznego roślin: zawartość azotu całkowitego, zawartość pierwiastków śladowych i makroelementów;
- analiz mikrobiologicznych: ogólna liczebność wybranych grup bakterii i grzybów, aktywność enzymatyczna, aktywność metaboliczna, inokulum bakteryjne w doświadczeniu szklarniowym;
- analiz genetycznych: metoda PCR-DGGE, izolacja i identyfikacja, izolacja potencjalnych asymilatorów N₂, identyfikacja bakterii potencjalnie rozpuszczających fosforany, genotypowanie metodą PCR MP, NGS - Sekwencjonowanie Następnej Generacji.

Uzyskane wyniki badań zostały opracowane statystycznie, z wykorzystaniem metod profesjonalnie dobranych (analiza wariancji, macierz korelacji, modele regresji liniowej, wskaźniki różnorodności funkcjonalnej mikroorganizmów, zbioru obserwacji potencjalnie skorelowanych zmiennych) do realizowanych zadań badawczych, co pozwoliło uzyskać wszechstronne i obiektywne informacje dotyczące oznaczanych parametrów oraz sformułować prawidłowe wnioski.

Doktorantka dla całej grupy pierwiastków analizowanych w rozprawie doktorskiej wprowadza określenia: "*pierwiastki śladowe*" lub "*metale śladowe*", a dla pierwiastków najczęściej toksycznych dla organizmów żywych "*potencjalnie toksyczne pierwiastki śladowe*" (*PTPS*), co moim zdaniem jest bardzo dobrym rozwiązaniem.

Zakres i metodyka badań nie budzą żadnych zastrzeżeń. Godnym podkreślenia jest, że do realizacji postawionych celów badań i weryfikacji hipotez badawczych zastosowano nowoczesne, stosowane w nauce o glebie i środowisku, metody badawcze. Prawidłowo przeprowadzono prace terenowe związane z lokalizacją powierzchni badawczych oraz pobieraniem próbek do analiz laboratoryjnych oraz materiału do doświadczenia wazonowego,

co czyni obiektywnymi wyniki badań. Dobór parametrów do realizacji zadań badawczych jest wysoce merytoryczny, co dało gwarancję "pełnej" weryfikacji postawionych hipotez badawczych.

W rozdziale **Wyniki i dyskusja** mgr inż. Sylwia Siebielec na 79 stronach omówiła wyniki zaprezentowane w 26 poprawnie skonstruowanych tabelach i 38 czytelnym wykresach oraz 1 fotografii. Rozdział ten jest bardzo obszerny, a dobrym rozwiązaniem było podzielenie go na podrozdziały 1-, 2-, 3-, a nawet 4-rzędu, co mimo dużej liczby wyników i analizowanych zależności, studiuje się go z zainteresowaniem. Doktorantka, opierając się na uzyskanych wynikach badań oraz ich analizie statystycznej, szczegółowo omawia rezultaty przeprowadzonych badań, odnosi się jednocześnie do danych z najnowszej literatury, wskazując na prawidłowości i wyjaśniając rozbieżności. Dyskusję oceniam jako wysoce merytoryczną, co świadczy o dużej wiedzy Doktorantki oraz umiejętności prowadzenia dyskusji naukowej.

Wnioski są pełnym odzwierciedleniem analizy uzyskanych wyników badań i ściśle nawiązują do celów i hipotez badawczych postawionych w rozprawie. Doktorantka wyszczególnia wnioski szczegółowe (8), prezentujące wyniki uzyskane z analizy i syntezy realizowanych zadań badawczych i zastosowanych metod analitycznych. Wnioski końcowe odnoszą się do obiektów badań i prezentują nowatorskie osiągnięcia naukowe, ich duży potencjał komercjalizacji oraz wskazują na potrzebę realizacji nowych kierunków badań.

Studiując tę interesującą rozprawę, nasunęły mi się uwagi i zapytania, które z obowiązku recenzenta przekazuję Doktorantce:

- Uwaga (pytanie) 1. W rekultywacji odtwarzania gleby na różnych materiałach, istotnym jest określenie ich nazwy, związanej z ich genezą lub/i właściwościami. Często stosuje się nazwę "gleba", co niejednokrotnie, szczególnie w pierwszych latach procesu rekultywacji, z glebą ma niewiele wspólnego. Bardzo dobrze, że w rozprawie stosowano różne nazwy (gleba, podłoże, gleba ryzosferowa, materiał glebopodobny, odpad żużłowy), ale wymagają ściślejszego dopasowania do badanych obiektów, także uwzględnienia klasyfikacji genetycznej gleb (PTG 2011, WRB).
- Uwaga 2. Zamieszczenie fotografii 8a, 8b, 9, 10, 11a, 11b, 12a, 12b, 13 w rozdziale Przegląd Literatury jest zbędne. Jeżeli już muszą się znaleźć, to w rozdziale Materiał i metody.
- Uwaga (pytanie) 3. W jakiej proporcji kompostowany był osad ściekowy z odpadami zielonymi? Co było podstawą wyznaczenia dawki kompostu w doświadczeniu wazonowym? Czy dawka kompostu przeliczana była na świeżą czy suchą masę?

- Uwaga 4. str. 107. ...jest wykres nr 13, a powinno być wykres nr 19.
- Uwaga 5. str. 120 ...jest tab. 16, a powinno być tab. 17.
- Uwaga 6. str. 113. ...jest rys. 14, a powinno być rys. 20.
- Uwaga 7. str. 122. trzeci wiersz od góry, jest (żużel) tab. 19, a powinno być (odpad poflotacyjny) tab. 18.

Przedstawione uwagi mają charakter uściślający lub dyskusyjny i nie obniżają wysokiej merytorycznej wartości rozprawy. Nie zmieniają także bardzo pozytywnego wrażenia, jakie pozostaje po wnikliwym jej przestudiowaniu.

Reasumując, stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska jest znaczącą pozycją naukową prezentującą wiedzę oryginalną, nowatorską i o dużym potencjale aplikacyjnym, dotyczącą roli i możliwości wykorzystania mikroorganizmów w rekultywacji biologicznej - fitoremediacji składowisk odpadów z hut cynku i ołowiu, ekstremalnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Wykazano w nich, co jest niewątpliwym *novum*, że mikroorganizmy, ich liczebność, aktywność enzymatyczna i metaboliczna, różnorodność metaboliczna i genetyczna, a także szczepy autochtoniczne stanowią warunek konieczny do osiągnięcia efektywności zabiegów rekultywacji oraz kształtowania procesów glebotwórczych.

Wyniki badań oceniające udział mikroorganizmów w procesie tworzenia się gleby technogenicznej na składowisku odpadów z huty cynku i ołowiu, ekstremalnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi, uznać należy jako nowatorskie i o dużej wartości poznawczej. Cennym jest, że wiedzę tę uzyskano na składowisku zrekultywowanym 20 lat temu przy wykorzystaniu dodatków użyźniających: komunalnego osadu ściekowego i wapna odpadowego, a okrywę biologiczną wytworzono z właściwie dobranych 12 gatunków traw.

Uzyskane wyniki wykazały, że ***"zastosowanie osadów ściekowych i wapna odpadowego w zabiegach remediacyjnych składowisk odpadów pohutniczych trwale odbudowuje aktywność biologiczną podłoża i funkcje gleby związane z aktywnością mikroorganizmów, zapewniając odporny na warunki środowiskowe ekosystem"***.

Stanowi to, że oceniany model rekultywacji technicznej i biologicznej - remediacji składowisk odpadów pohutniczych może być z powodzeniem transferowany na inne obiekty, w tym do odbudowy gleb na terenach zdewastowanych chemicznie.

W badaniach nad wpływem niezrekultywowanych składowisk odpadów poflotacyjnych i żużlowych huty cynku i ołowiu na ocenę interakcji zachodzących pomiędzy roślinami spontanicznie porastającymi składowiska, a aktywnością i różnorodnością mikrobiologiczną materiału glebopodobnego, uzyskano nowatorskie wyniki, o dużej wartości

poznawczej i dużym potencjale aplikacyjnym. Wykazały one, że **"interakcje między mikrobiomem gleby, a roślinami zasiedlającymi składowiska odpadów pohutniczych są kluczowe dla przywrócenia życia biologicznego oraz zapewnienia warunków dla wzrostu i rozwoju roślin na składowiskach, zarówno w podejściu fitostabilizacyjnym, jak i w naturalnych procesach zasiedlania składowisk przez rośliny"**.

Podkreślić jednak należy, że rekultywacja składowisk odpadów i gleb silnie zanieczyszczonych przez metale ciężkie z wykorzystaniem naturalnej sukcesji roślin, jest procesem długoletnim. Metoda ta powinna być stosowana na obiektach, gdzie nie można zastosować rekultywacji wspomaganej z wykorzystaniem dodatków użyźniających.

Wyniki badań uzyskane w doświadczeniu wazonowym wykazały, że **"zastosowanie wyselekcjonowanych i odpornych na zanieczyszczenia szczepów bakterii może zwiększać efektywność zabiegów fitostabilizacji wspomaganej, poprzez wspomaganie rozwoju roślin oraz wpływ na biodostępność składników nawozowych i pierwiastków śladowych. Zastosowane zabiegi inokulacji odpadów pohutniczych pozytywnie wpływają na plon roślin w warunkach kontrolowanych, sygnalizując ich znaczny potencjał w optymalizacji procesów fitostabilizacyjnych"**.

Uzyskane rezultaty badań potwierdzone w doświadczeniach poletkowych (na potrzebę ich realizacji wskazuje także Doktorantka), mogą być stosowane w rekultywacji gleb zdegradowanych chemicznie, do zwiększenia potencjału produkcyjnego gleb słabej jakości (marginalnych) oraz w rolnictwie, do intensyfikacji produkcji roślinnej.

Rezultaty badań zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej posiadają, co już podkreślałem wcześniej, duży potencjał aplikacyjny. Należałoby odpowiedzieć na pytanie czy wskazanym byłoby zatem zgłoszenie wniosków na wynalazek do Urzędów Patentowych Polski i UE.

Niezwykle cennym i w pełni uzasadnionym jest wykorzystanie, w procesie rekultywacji i fitostabilizacji składowisk odpadów pohutniczych, odpadowych dodatków użyźniających. Stwarzają one odpowiednie warunki do wzrostu roślin i kształtowania okrywy biologicznej na składowiskach, co eliminuje rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń ze składowisk, a także intensyfikuje proces tworzenia się gleby. Ponadto takie wykorzystanie odpadów wpisuje się w zalecaną gospodarkę obiegu zamkniętego.

Biorąc pod uwagę zakres pracy i uzyskane wyniki badań można postawić pytanie, czy uzyskana nowa wiedza może/powinna być wykorzystana do nowelizacji przepisów prawnych dotyczących bezpiecznego zarządzania terenami o ekstremalnie wysokiej zawartości metali ciężkich.

O nowatorskich wynikach badań zawartych w rozprawie doktorskiej świadczy fakt, że wyznaczają potrzebę realizacji nowych kierunków i zadań badawczych. Doktorantka już na etapie podsumowania wyników badań, precyzuje nowe zagadnienia badawcze, dotyczące: oceny możliwości wykorzystania PGPR w rolnictwie wraz z analizą ewentualnych skutków ubocznych; doboru określonych szczepów bakterii do czynników ograniczających produkcję roślinną (susza, niedobór lub nadmiar składników, rodzaj zanieczyszczenia); poszukiwania szczepów bakterii w remediacji gleb/odpadów objętych presją mało rozpoznanych zanieczyszczeń np. farmaceutykami; doboru szczepów bakterii do optymalnego dawkowania odpadów organicznych (np. komunalnych osadów ściekowych) w rekultywacji terenów zdegradowanych i nawożeniu gleb uprawnych, szczególnie słabej jakości; zwiększenia sekwestracji węgla w glebach, co ograniczy emisję gazów cieplarnianych i przyczyni się do ochrony klimatu.

Postawę Doktorantki w wyznaczeniu nowych, innowacyjnych kierunków badań znakomicie określa cytat Davida Fredericka Attriborougha *"Wiemy tylko niewielką część o złożoności świata przyrody. Gdziekolwiek spojrzymy, wciąż są rzeczy, o których nie wiemy i których nie rozumiemy" ...Zawsze znajdziemy nowe rzeczy, jeśli będziemy ich szukać*". Świadczy to, że mgr. inż. Sylwia Siebielec posiada głęboką wiedzę i dużą aktywność w kreowaniu i realizacji innowacyjnych badań naukowych. Wyrazem tego jest przyznanie Jej wyróżnienia *"Naukowiec przyszłości"* oraz wykorzystanie badań zainicjowanych w rozprawie doktorskiej do opracowania i złożenia projektu badawczego na XII Konkurs Programu LIDER Narodowego Centrum Badań i Rozwoju pt.: *"Opracowanie innowacyjnej technologii wytwarzania wzbogaconych mikrobiologicznie bionawozów wspomagających zrównoważoną produkcję roślinną i jej adaptację do zmian klimatu"* Nr projektu LIDER/36/0184/L-12/20/NCBR/21, który w 2021 roku otrzymał finansowanie.

5. Wniosek końcowy

Na podstawie oceny formalnej i merytorycznej rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec pt.: *„Ocena możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności wybranych fitotechnologii w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami”*, przygotowanej pod opieką naukową profesora dr hab. Tomasza Stuczyńskiego stwierdzam, że praca wchodzi w zakres dziedziny nauk rolniczych, dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Rozprawa stanowi oryginalne i innowacyjne osiągnięcie naukowe, prezentujące nową wiedzę i o dużym potencjale aplikacyjnym. Wiedza ta jest bardzo potrzebna dla rozwoju nauk rolniczych, do racjonalnego

zarządzania środowiskiem objętym wpływem wielorakich presji antropogenicznych, a także w rolnictwie oraz w gospodarce odpadami w ramach obiegu zamkniętego.

W powyższym świetle stwierdzam z głębokim przekonaniem, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wymogi określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz.U. 2016 r., poz. 882), zgodnie z art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) oraz Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 roku w sprawie dziedzin Nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin artystycznych (Dz.U. 2018 poz. 1818).

Wnioskuje zatem do Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowego Instytutu Badawczego o dopuszczenie mgr inż. Sylwii Siebielec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Szczególnie wysoko oceniam wybór tematyki badań rozprawy, ich realizację oraz uzyskanie nowatorskich wyników, których analiza naukowa dała podstawę do sprecyzowania wniosków o dużym znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym oraz wyznaczenia nowych kierunków badań. Znaczącym jest również opracowanie innowacyjnego modelu odbudowy gleb technogenicznych na składowiskach odpadów silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

Dokonania te upoważniają mnie o postawienie wniosku o nagrodzenie rozprawy doktorskiej mgr inż. Sylwii Siebielec pt. *„Ocena możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności wybranych fitotechnologii w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami”*, stosowną nagrodą.

Lublin 18 stycznia 2023 roku

Prof. dr hab. inż.  Stanisław Baran