

Prof. dr hab. inż. Jacek Antonkiewicz
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny
Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej
PL. 31-120 Kraków, Al. Mickiewicza 21
Tel. +48 12 662 49 08; Tel/Fax. +48 12 662 43 41
E-mail: jacek.antonkiewicz@urk.edu.pl

Kraków, 09.02.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Topolskiego pt. „Wpływ kwasu salicylowego na tolerancję traw na skażenie Cu i Zn”

1. Wprowadzenie

Ocena rozprawy doktorskiej została przygotowana w odpowiedzi na pismo z dnia 27.01.2023 r., informujące, że zgodnie z uchwałą nr 7/2023 z dnia 24.01.2023 r., wyznaczono mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Jakuba Topolskiego pt. „Wpływ kwasu salicylowego na tolerancję traw na skażenie Cu i Zn”, w miejsce uprzednio wyznaczonej prof. dr hab. Renaty Gaj. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana z Zakładzie Herbologii i Technik Uprawy Roli IUNG-PIB Wrocław, pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Stanisławskiej-Głubiak i promotora pomocniczego dr hab. Jerzego Żuchowskiego.

2. Ocena problematyki badawczej

Naturalne i antropogeniczne zanieczyszczenie środowiska jest niezwykle poważnym problemem ze względu na jego wszechobecność i w zdecydowanej większości trwałość oraz akumulację w środowisku. W ostatnich latach technologie oczyszczania gleb zanieczyszczonych w wyniku działalności człowieka uległy znacznej ewolucji. Obecnie coraz bardziej stawia się na technologie zielone, w tym na metody biologiczne, wspomagane chemicznymi. W związku z tym konieczne jest rozwijanie i opracowywanie metod biologicznych, wykorzystujących dodatki chemiczne, o charakterze biodegradowalnym, które mają pomóc roślinom do efektywniejszego oczyszczania gleb z zanieczyszczeń chemicznych, w tym metali ciężkich.

W remediacji, w celu złagodzenia fizjologicznego stresu wywołanego nadmiarem metali ciężkich w podłożu, stosuje się małowczątkowe kwasy organiczne, w tym kwasy fenolowe, do których zalicza się kwas salicylowy. Związek ten reguluje poziom reaktywnych form tlenu (ROS) i antyoksydantów, jak również kompleksuje metale i odpowiednio je rozprządza w roślinie, łagodząc stres wywołany nadmiarem metali ciężkich w podłożu.

Rozprawa doktorska mgr Jakuba Topolskiego pt. „Wpływ kwasu salicylowego na tolerancję traw na skażenie Cu i Zn” podejmuje ważną, bardzo aktualną i interesującą problematykę badawczą, zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i aplikacyjnego w naukach o remediacji gleb zanieczyszczonych chemicznie. Tematyka badawcza dotyczyła oceny dwóch gatunków traw z rodzaju *Festuca*, traktowanych kwasem salicylowym, na łagodzenie stresu wywołanego nadmierną zawartością metali ciężkich w glebie.

W dysertacji przedstawiono interesujący przegląd literatury naukowej, materiał i metody prowadzonych badań w warunkach doświadczeń wazonowych, następnie wyniki, dyskusję naukową oraz wnioski i bibliografię.

3. Formalna analiza rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o oryginalne wyniki badań własnych i obejmuje 75 stron maszynopisu. W rozprawie zamieszczono 11 rozdziałów o następujących tytułach: 1. Wstęp, 2. Hipoteza badawcza i cel badań, 3. Przegląd literatury, 4. Metodyka badań, 5. Wyniki, 6. Dyskusja, 7. Wnioski, 8. Bibliografia, 9. Streszczenie, 10. Summary, 11. Załącznik.

Rozprawa doktorska zawiera bogaty materiał dokumentacyjny, w tym: 29 tabel, 25 rysunków. Bazę bibliograficzną rozprawy stanowi 150 pozycji literaturowych, które pod względem formalnym, merytorycznym są cytowane w sposób właściwy, adekwatny do tego typu opracowań.

Układ rozprawy doktorskiej Pana mgr Jakuba Topolskiego nie budzi zastrzeżeń, jest ograniczony do zagadnień merytorycznych, niezbędnych dla przeprowadzenia wywodu zgodnego z koncepcją Autora.

4. Merytoryczna analiza rozprawy

Oceniana rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o uzyskane przez Autora oryginalne wyniki badań przeprowadzonych w warunkach doświadczeń wazonowych, w Zakładzie Herbolgii i Technik Uprawy Roli IUNG-PIB we Wrocławiu, które były niezbędne do weryfikacji hipotezy badawczej.

Istotnym aspektem poznawczym rozprawy doktorskiej była ocena dwóch gatunków traw tj. kostrzewy trzcinowej i kostrzewy czerwonej, uprawianych na glebie zanieczyszczonej Cu i Zn, w kontekście łagodzenia stresu wywołanego tymi metalami, za pomocą dodatku w postaci kwasu salicylowego.

Badania przeprowadzono w warunkach dwuletnich doświadczeń wazonowych na glebie lekkiej o odczynie kwaśnym.

Doceniam duży nakład pracy badawczej włożonej w uzyskanie wyników, praca ma wiele aspektów nowatorskich, w tym charakter aplikacyjny, co podnosi wartość merytoryczną dysertacji. Hipoteza badawcza rozprawy jest poprawnie sformułowana, aczkolwiek uniknąłbym używania określenia „sprawdzenie reakcji...” (Str. 7). Przegląd literatury jest właściwie napisany, odnosi się do problematyki badawczej i aspektów użytkowych w zakresie łagodzenia fizjologicznego stresu, wywołanego nadmierną zawartością metali ciężkich.

Jednakże po dokładnym przestudiowaniu dysertacji nasunęły mi się uwagi natury krytycznej, czasami dyskusyjnej, nie obniżające wartości merytorycznej rozprawy. Poniższe uwagi można będzie wziąć pod uwagę przy przygotowaniu dysertacji do publikacji w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Uwagi przedstawiam poniżej:

Tytuł rozprawy

W tytule rozprawy zamiast słowa „skażenie” proponuję używać zanieczyszczenie. W mojej ocenie skażenie spowodowane jest celowym zanieczyszczeniem, awarią, katastrofą, wypadkiem, i np. skażenie gleby substancjami niebezpiecznymi spowodowałoby nieodwracalne skutki ekologiczne (środowiskowe, zdrowotne), które będzie bardzo trudno z rekultywować, remediować i przywrócić dla środowiska. Natomiast zastosowane dawki metali ciężkich były niewysokie i nie świadczą o skażeniu gleby.

Rozdział metodyka badań

Dlaczego eksperymentu nie zaplanowano jako 3 czynnikowego? W mojej ocenie dwa oddzielne doświadczenia wazonowe można potraktować jako doświadczenia 3-czynnikowe: I czynnik: rodzaj metalu, II czynnik: poziom metalu (zanieczyszczenia), III czynnik: gatunek rośliny. Proszę o odniesienie się do powyższej uwagi - natury dyskusyjnej.

Dlaczego w tabelach (np. 4) nie przedstawiono kompletu obiektów poziomów czynnika I (rodzaj i poziom skażenia gleby metalami)? Ich brak nie pozwala na dogłębną analizę interakcji czynników.

Analiza chemiczna materiały roślinnego była wykonywana na próbkach średnich (obiektywnych, z czterech powtórzeń), stąd nie było możliwe przeprowadzenie analizy wariancji składu chemicznego roślin. W mojej ocenie takie podejście nie dyskwalifikuje rozprawy doktorskiej, jako pracy naukowej, ale jest to zapewne duża strata do głębszej analizy i interpretacji wyników. Być może wynika to kosztów analizy ?; braku materiału roślinnego, zwłaszcza uzyskanego w obiektach o największych poziomach zanieczyszczenia ? – Proszę o wyjaśnienie tej wątpliwości – natury dyskusyjnej ?

W podrozdziale analizy chemiczne sugerowałbym dodanie informacji na temat stosowania certyfikowanych materiałów referencyjnych (CRM), zapewne były stosowane, skoro analizy były przeprowadzone w laboratorium akredytowanym. Informacja tego rodzaju często jest wymagana w niektórych czasopismach naukowych, i dlatego zwracam uwagę na ten aspekt.

Rodzaj i poziom zanieczyszczenia gleby – Oceniając zastosowane dawki Cu i Zn dla gleby lekkiej, gleb użytkowanych rolniczo, są w mojej ocenie nieduże, ponieważ dopuszczalna zawartość tych pierwiastków dla gleby lekkiej, według rozporządzenia Ministra Środowiska (2016) waha się odpowiednio w zakresach: dla Cu od 100 do 300 mg·kg⁻¹ i dla Zn od 300 do 1000 mg·kg⁻¹ (grupa gruntów II-1, II-2, II-3). Natomiast dla pozostałych gruntów (np. miejskie, przemysłowe) dopuszczalna zawartość Cu i Zn jest jeszcze większa i waha się odpowiednio w zakresach: dla Cu od 200 do 600 mg·kg⁻¹, i dla Zn od 500 do 2000 mg·kg⁻¹, stąd poziom zanieczyszczenia tymi pierwiastkami zaprezentowany w rozprawie doktorskiej jest stosunkowo niewielki. Z punktu widzenia reakcji roślin, zaprezentowane w rozprawie doktorskiej poziomy zanieczyszczenia metalami ciężkimi (Cu 80-160; Zn 200-400), są zapewne wystarczające żeby uchwycić aspekty stresu fizjologicznego roślin, jednak proszę o uzasadnienie wyboru poziomu zanieczyszczenia gleby lekkiej tymi metalami.

Wyniki badań

W mojej ocenie wpływ czynnika I (rodzaj i poziom zanieczyszczenia gleby Cu i Zn) powinien być oceniany jako całość, a nie indywidualnie, najpierw Cu, następnie Zn, podejście takie pozwoliło by na porównanie wpływu tych metali na analizowane wskaźniki takie jak: plonowanie, zawartość pierwiastka, współczynnik bioakumulacji (BF) i translokacji (TF).

Proszę wyjaśnić dlaczego w glebie kontrolnej, nie zanieczyszczonej metalami ciężkimi, stwierdzono większą zawartość Cu (6,9 mg/kg s.m., Tabela 7, str. 24) w porównaniu do zawartości „wyjściowej”, gleby użytej do badań (6,5 mg/kg s.m., tabela 3, str. 18). Kostrzewa trzcinowa, pobrała część metalu, stąd zawartość powinna być nieznacznie mniejsza ? W przypadku zawartości Zn w glebie wyjściowej (26 mg/kg s.m., Tabela 3, str. 18) i po doświadczeniu (25,4 mg/kg s.m., Tabel 13, str. 30), zarejestrowano nieznaczny ubytek tego metalu, co można wytłumaczyć pobraniem tego metalu przez roślinę testową.

W mojej ocenie statystyczne porównanie dwóch kostrzew (trzcinowej i czerwonej) w plonowaniu, zawartości pierwiastków, współczynnika bioakumulacji (BF) i translokacji (TF) pozwoliło by na ocenę tych gatunków w kontekście ich przydatności do fitostabilizacji czy też fitoekstrakcji metali ciężkich z gleby. Tym bardziej, że takie porównanie gatunków dokonano na przykładzie analizy chromatograficznej profilu związków fenolowych (Rys. 18, Str. 45), i wydaje się że powyższa analiza jest bardzo cenna i przydatna dla praktyki remediacyjnej i badań fizjologicznych. Cennym wydaje się porównanie profili związków, alkaloidów, kwasów fenolowych, flawonoidów w kostrzewach, co będzie można wykorzystać w typowaniu gatunków do badań nad zwiększeniem reakcji obronnych roślin na zanieczyszczone podłoża metalami ciężkimi. Ponadto analiza chromatograficzna w tym zakresie może pozwolić na ocenę skutków stresu oksydacyjnego indukowanego obecnością nadmiernych ilości metali ciężkich w glebach zanieczyszczonych chemicznie. Na podstawie przeprowadzonej analizy chromatograficznej można w przyszłości typować potencjalne gatunki do fitostabilizacji,

fitekstrakcji czy też jako gatunki wskaźnikowe, dla gleb zanieczyszczonych chemicznie. Aspekt badań chromatograficznych oceniam bardzo wysoko.

W mojej ocenie na przedstawionych chromatogramach (Rys. 18-21) można było zamieścić opis ważniejszych pików, wskazujące określone związki, substancje. Dodatkowy opis ułatwia czytanie oraz interpretację uzyskanych rezultatów badań.

Proszę podać przykładowy mechanizm ? ograniczający translokację metali ciężkich z korzeni do części nadziemnych roślin. Czy występuje różnica pomiędzy Cu i Zn w zakresie translokacji tych pierwiastków w roślinach ?

Dyskusja

W rozdziale „Dyskusja” Autor porównuje wielkość plonu, zawartość metali ciężkich, wskaźniki TF i BC między gatunkami, co jest zasadne, wynika z naukowego i metodycznego podejścia do analizy wyników, natomiast w rozdziale „Wyniki” takiego podejścia do interpretacji nie wykonano i nie wykorzystano.

Wysoko oceniam porównanie dwóch gatunków roślin w zakresie analizy profilu związków fenolowych, co pozwala na pogłębianie wiedzy z zakresu odmiennych reakcji roślin na nadmiar metali ciężkich w roślinach.

Wnioski

Sformułowane wnioski w przedstawionej dysertacji są adekwatne do prezentowanych badań naukowych.

Proszę Autora dysertacji, podczas posiedzenia naukowego, o konkretne wytypowanie testowanego gatunku traw do fitostabilizacji badanych metali ciężkich. Ponadto proszę o ustosunkowanie się celowości stosowania kwasu salicylowego na rośliny w kontekście wpływu tego związku na glebę, wody gruntowe, odczyn. Jaki aspekt praktyczny widzi Pan w aplikacji tego związku ?

Badania na przyszłość

W przyszłości, Doktorant chcąc pogłębiać swoją wiedzę i rozwijać naukę w dyscyplinie, w której jest procedowany doktorat, może podjąć się następujących aspektów badawczych, ściśle związanych z ocenianą rozprawą:

- ✓ Oznaczanie zawartości chlorofilu – aplikacja kwasu salicylowego na powierzchnię liści może wpłynąć na zmniejszenie zawartości chlorofilu, skutek ten wcale nie musi być wywołany aplikowanymi do gleby metalami;
- ✓ W powiązaniu do chlorofilu, można również ocenić aktywność fotosystemu, zwłaszcza fotosystemu PSII, który informuje o zakłóceniach procesu fotosyntezy, wywołany np. nadmiarem metali ciężkich w podłożu; transpirację, wyciek elektrolitów itp.;
- ✓ Oznaczenie enzymów oksydacyjnych, odpowiedzialnych za zmiatanie wolnych rodników, odpowiedzialnych za stres roślin indukowany zanieczyszczeniem podłoża;
- ✓ Oznaczanie biodostępnych form metali ciężkich w glebie - pod wpływem kwasu salicylowego na rośliny warunki w glebie mogą ulec zmianie, np. pH gleby, mający zasadniczy wpływ na biodostępność i pobieranie metali ciężkich z gleby przez rośliny. Tym bardziej, że w dyskusji jest mowa o pH rizosfery, przez co metale mogą przypierać formy niedostępne (str. 54).

5. Podsumowanie

Art. 13 ust. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity) z 15 września 2017 (Dz.U. 2017 poz. 1789), stanowiący podstawę formalną niniejszej recenzji brzmi (wytluszczenie własne): „Rozprawa doktorska, przygotowywana pod opieką promotora albo pod opieką promotora i promotora pomocniczego, **powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub oryginalne rozwiązanie problemu** w oparciu o opracowanie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne, lub oryginalne dokonanie artystyczne, **oraz wykazywać ogólną wiedzę teoretyczną**”

kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej”.

Mimo zawartych w recenzji uwag krytycznych, stwierdzam, że nie obniżają one istotnych wartości dysertacji, a mogą stanowić przyczynek do dyskusji naukowej rozpoczętej na publicznej obronie rozprawy.

Rozprawa doktorska mgr Jakuba Topolskiego stanowi oryginalne problemu naukowego i wykazuje, że jej Autor ma wystarczający zasób wiedzy teoretycznej i specjalistycznej z zakresu uprawianej dyscypliny naukowej oraz umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych.

6. Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę wymogi określone w ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 r., Poz. 1669), a także zakres badań, przyjętą metodologię i zastosowane metody badawcze oraz sposób opracowania i przedstawienia wyników, rozprawę doktorską mgr Jakuba Topolskiego pt. „Wpływ kwasu salicylowego na tolerancję traw na skażenie Cu i Zn” uznaję za w pełni spełniającą wymogi stawiane tego typu opracowaniom. Po analizie przedłożonej mi do recenzji rozprawy doktorskiej stwierdzam, że stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz mieści się w dziedzinie „nauk rolniczych”, dyscyplinie „rolnictwo i ogrodnictwo”.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami prawnymi dotyczącymi szczegółowego trybu przeprowadzenia czynności w przewodach doktorskich, składam formalny wniosek do Rady Naukowej IUNG-PIB w Puławach o dopuszczenie mgr Jakuba Topolskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jacek Antonkiewicz



