

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Ewy Mackiewicz-Walec zatytułowanej

„Wpływ obornika i nawozów mineralnych na zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w glebie”

Recenzja została wykonana w oparciu o pismo Pana Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie prof. dr hab. Krzysztofa Młynarczyka z dnia 28.04.2017r. zawierającego prośbę o dokonanie oceny nadesłanej pracy doktorskiej autorstwa mgr inż. Ewy Mackiewicz-Walec.

1. Ocena problematyki badawczej rozprawy

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) należą do grupy tzw. mikrozanieczyszczeń organicznych, w której wymienia się również polichlorowane biofenyle (PCB), polichlorowane dibenzo-dioksyny i -furany (PCDD/DF, hexachlorobeznen (HCB) i inne. Badania nad ich występowaniem w środowisku, przemianami, jak i zagrożeniami dla organizmów żywych prowadzone są od wielu lat, ale i tak nie wszystko o nich wiemy. Szczególnie dużo miejsca poświęca się WWA i to wieloaspektowo, obejmując nimi wszystkie ogniwa bytowania organizmów, w tym szczególnie powietrze, wodę i glebę. Pewnym niedostatkiem tych badań jest ich prowadzenie na ogół wycinkowo, np. gleby, ale już pomijając rosnące na niej rośliny, nie wspominając o konieczności uwzględnienia aktywności mikrobiologicznej. W odniesieniu do gleby z kolei badania oparte są często o inkubację laboratoryjną, która jest wręcz konieczna na wstępnym etapie badań, ale jej ciągiem winny być badania wegetacyjne. Bowiemy tylko wówczas mamy pewność potwierdzenia występowania, czy określenia tendencji w zmianach i zachowaniu ksenobiotyku. W związku z tym wyciąganie często daleko idących wniosków z badań inkubacyjnych nasuwa niekiedy sporo zastrzeżeń.

Wspominam na wstępie o tym dlatego, że właśnie recenzowana praca zawiera według mnie ten ważny aspekt, tzn. wyniki z badań pochodzą z wieloletniego doświadczenia polowego, chociaż ograniczone do samej gleby. Biorąc jednak pod uwagę zakres przeprowadzonych prac, trudno byłoby, jak sądzę Doktorantce ująć jeszcze rośliny przy takim modelu doświadczenia. Uwzględnienie jednak samej gleby i to w badaniach wegetacyjnych - polowych jest uzasadnione, bowiem, jak wspomniano w Przeglądzie literatury pracy

doktorskiej (str. 12) właśnie gleba stanowi najważniejsze ogniwo narażenia na WWA. Na nią bowiem przypada blisko 90% WWA występujących w powietrzu, wodzie i glebie. W praktyce oznacza to, że ten ekosystem wymaga szczególnego podejścia od strony ochrony, bowiem gromadzone w niej toksykanty - ale nie tylko WWA, stanowią potencjalne źródło ich włączenia w łańcuch pokarmowy. Poza tym, WWA mogą podlegać i na ogół podlegają w glebie złożonym przemianom, prowadzących do ich częściowej lub pełnej biodegradacji. Problem w tym, że rozkład ten nie zawsze odbywa się z udziałem mikroorganizmów. Tym bardziej, że WWA podlegają nie tylko mineralizacji, lecz również pobierane są przez roślinę oraz wiązane przez próchnice glebową.

Mając powyższe na uwadze gleba musi podlegać stałemu monitoringowi, który uwzględnia również źródła związków z grupy WWA dostające się do gleby. Bez wątplenia jednym z takich źródeł są nawozy, w tym i obornik oraz gnojowica, jak również komunalne osady ściekowe, czy niektóre komposty. Trudno przy tym nie wspomnieć o znaczeniu depozycji WWA z powietrza.

Przedłożona do recenzji praca zawiera dane dotyczące właśnie wpływu obornika i nawożenia mineralnego na zawartość WWA, co wypełnia pewną *lukę* w tym temacie. Tym bardziej, że wbrew pozorom w dostępnej literaturze naukowej obornik i nawozy mineralne nie zajmują szczególnego miejsca w kwestii zawartości organicznych zanieczyszczeń w odróżnieniu np. od tzw. metali ciężkich. Z tego, jak sądzę względu brak dokładnych danych w literaturze dotyczących udziału w *bilansie* organicznych zanieczyszczeń np. w układzie nawozy naturalne, osady ściekowe, nawozy mineralne, jak to wykazano właśnie w badaniach francuskich, szwajcarskich i niemieckich na przykładzie metali ciężkich. Wynika z nich, że właśnie „nawozy gospodarskie” są dominującym źródłem tych zanieczyszczeń.

Dlatego podjęcie się przez Doktorantkę zadania związanego z określeniem rzeczywistego wpływu nawożenia obornikiem i nawozami mineralnymi na zawartość WWA w glebie w stosunkowo długim przedziale czasowym *należy uznać za istotne z naukowego i poznawczego punktu widzenia*. Jednocześnie nadmieniam, że problematyka recenzowanej pracy doktorskiej mgr inż. Ewa Mackiewicz-Walec mieści się w *dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie agronomia*.

2. Formalna analiza pracy

Przedłożona do recenzji praca zawiera wyniki analiz wykonanych na próbkach glebowych pochodzących z wieloletniego doświadczenia polowego. Próbki z warstwy ornej (0 – 30 cm) pochodziły z lat 1998-2008 (n= 576) oraz z roku 2015, a z poziomu 30 – 60 cm z lat 2006- 2009. Całość badań można by podzielić z grubsza na dwie grupy: pierwsza to analiza chemiczno-rolnicza, druga ograniczona w zasadzie do roku 2015r. to badania mikrobiologiczne. Całość opracowania Doktorantka ujęła na 132 stronach w układzie standardowym, stosowanym na ogół w pracach doktorskich oraz na 13 stronach Aneksu zawierającego wyniki przedstawione w tabelach (1a do 12a).

Pierwszym, ważnym i obszernym rozdziałem jest „Przegląd literatury”, obejmujący 18 stron, co stanowi 12,4% objętości pracy. Uwagę zwraca przede wszystkim zasobna ilościowo, bo aż 308 pozycji literaturowych, w tym 75 w języku polskim, pozostałe obcojęzyczne, głównie w

języku angielskim. W moim przekonaniu wymagało to od Doktorantki sporo pracy, chociaż uważam, że przy ostrzejszej selekcji doboru tematycznego ilość tych pozycji mogła być zmniejszona co najmniej o 30%. Na podkreślenie zasługuje jednak fakt, że Autorka dokonała dobrego wyboru dotyczącego aktualności badanych problemów, wyrażającego się rokiem ich wydania. Świadczy o tym udział ponad 52% pozycji literaturowych wydanych w latach 2001-2010 i 26% z wydanych po 2010 roku. Były to poważne podstawy do dość swobodnego posługiwania się Doktorantki odniesieniami właśnie do literatury, szczególnie w konfrontowaniu danych z wynikami badań własnych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje rozdział 4 „Wyniki badań własnych” zajmujący 75 stron, co stanowi blisko 52% objętości pracy. Dane, ich omówienie z dyskusją zestawiono w 11 tabelach (11-21) oraz na 68 rycinach.

Wnioski (rozdział 5) zawarto w 12 punktach na str. 115-116. Autorka nie pominęła (co niekiedy się zdarza) zawrzeć również streszczenia w języku polskim i angielskim.

3. Merytoryczna ocena pracy

Omawiana praca w założeniu Autorki ma charakter jednowątkowy, chociaż według mnie można by z tym dyskutować. Wskazują na to nie tylko przedstawione hipotezy badawcze (3), ale i tematy podrozdziałów rozdziału 4. Niezależnie od tego według Doktorantki celem pracy była m.in. „ocena wpływu nawożenia obornikiem i nawozami mineralnymi na zawartość związków z grupy WWA...”. I co do tego mam pewne wątpliwości, wynikające przede wszystkim z zawężenia tego celu. Co prawda w dalszej części Doktorantka nieco rozszerza te cele, ale dla większej przejrzystości można było je wyartykułować w kolejnych punktach, przykładowo w zapisie:

Celem pracy było określenie wpływu obornika i nawozów mineralnych na zawartość wybranych związków z grupy WWA. Cel ten realizowano w następujących zadaniach:

- określenie zawartości WWA w poziomie próchnicznym (0-3 cm) gleby i podglebiu (30-60),
- oceny wpływu roślin uprawnych (zmianowanie) na zawartość WWA w glebie,
- określenie aktywności mikrobiologicznej i biochemicznej w zależności od nawożenia obornikiem i nawozów mineralnych i ich wpływu na kształtowanie się zawartości WWA w glebie
- ocenie statystycznej danych określających istotność lub jej brak we wpływie na ilość WWA w glebie poszczególnych czynników.

Oczywiście to jest propozycja nie negująca zapisu w pracy, tylko je uzupełniająca do dyskusji lub przygotowywanej, jak sądzę publikacji.

Realizowane przez Doktorantkę prace były podporządkowane wytyczonym przez nią hipotezom roboczym i konsekwentnie realizowane. Moim zdaniem, nie było to łatwe biorąc pod uwagę schemat wieloletniego doświadczenia polowego, jak i niezwykle dużą ilość analiz chemicznych, a w jednym roku dodatkowo mikrobiologicznych. Wykorzystane analizy chemiczne okazały się na tyle niezbędne, że pozwoliły Doktorantce wykorzystać uzyskane

dane do oceny wpływu badanych czynników m.in. na kształtowanie się zawartości WWA w glebie w oparciu o bardzo dobrze udokumentowane obliczenia statystyczne. W tym miejscu muszę wyraźnie zaznaczyć, że statystyczny wątek pracy zasługuje na szczególne podkreślenie, bowiem nie często zdarza się w pracach doktorskich typu „rolniczego” wykorzystać i zastosować tak złożone modele i testy (str. 32-33). Pozwoliło to pani mgr inż. Ewie Mackiewicz-Walec uzyskane wyniki przedstawić syntetycznie, nie tylko w tabelach ale i w formie rycin, dających przejrzysty obraz wykazanych zależności.

Odnosząc się do aspektu mikrobiologicznego uważam, że mimo niezwykle dużego nakładu pracy włożonej przez Doktorantkę w ten rozdział, wyniki należy taktować jako pogładowe, bez daleko idącego wyciągania wniosków. Wynika to z racji m.in. bardzo niekorzystnej pogody w omawianym roku, co miało bez wątpienia wpływ na przebieg aktywności mikrobiologicznej i rozwój jęczmienia jarego, a tym samym na przebieg procesów przemian WWA.

Rozpatrując wpływ nawożenia Doktorantka wykazała wysoce istotny wpływ obornika na zawartość WWA w poziomie próchnicznym gleby, podobnie jak i nawożenia mineralnego, który był jednak na niższym poziomie od obornika. Na uwadze należy jednak mieć fakt stosowania obornika w dużej dawce ($40 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$) i to co dwa lata, co w jakimś stopniu wzmacniało uzyskany efekt. Jak sądzę Autorce byłoby łatwiej prowadzić analizę danych, gdyby dysponowała większą ilością próbek obornika z zawartością WWA. Tym bardziej, że z literatury wiadomo, iż skład ten jest zróżnicowany. To nie zmienia jednak wartości uzyskanych danych, jak i dość obszernej, ale w miarę spójnej interpretacji wyników. Na tym tle ujawniono jednocześnie, że obornik miał istotny wpływ nie tylko na kształtowanie ilości ΣWWA , ale i poszczególnych grup tych związków, wydzielonych pod względem tzw. „ciężkości”. Wykorzystując do obliczeń transformację (przekształcenie) logarytmiczną danych Doktorantka udowodniła kontrastujące różnice występowania tak sumy WWA (rys.6), jak i składających się na nią sum „lekkich” (rys.11) i „ciężkich” WWA (rys.16) w glebie nawożonej obornikiem i bez niego. To istotnie dało pogląd rzeczywistego znaczenia i wpływu obornika na te związki, potwierdzając tym samym doniesienia wielu badających ten problem. Przykład ten bardzo mocno wzmacnia wcześniej wyrażony przeze mnie pogląd o wartości zastosowanych metod statystycznych w pracy! Jednocześnie chciałbym podkreślić, że po raz pierwszy spotykam się w pracy z zakresu agronomii o innym ujęciu WWA, niż to ma na ogół miejsce. Otóż w większości polskich i nie tylko prac autorzy rozpatrują indywidualnie każdy z 16, 12 czy 9 WWA. Z kolei pani mgr inż. Ewa Mackiewicz-Walec podeszła nieco pragmatycznie i ujęła je w dwie grupy, tzn. WWA „lekkie” i „ciężkie”, co pozwoliło jej dokonać bardziej syntetycznego omówienia wyników, unikając rozdrabniania się nad każdym węglowodorem z osobna! Oczywiście każdy sposób ma swoje wady i zalety. Jednak takie podejście, niezależnie od motywacji ma swoje uzasadnienie m.in. w tym, że coraz częściej spotyka się krytykę dotyczącą oceny występowania i zagrożenia WWA w środowisku wyłącznie o stosowany powszechnie tzw. węglowodór „wskaźnikowy”, jakim jest benzo(a)piren.

Poza obornikiem wpływ na WWA gleby mają również składniki nieorganiczne, w tym szczególnie azot oraz fosfor, który w pracy nie był brany pod uwagę, tak jak potas. W moim

przekonaniu właśnie potas należało pominąć w omawianiu, bowiem w temacie WWA nie jest na ogół brany pod uwagę. Wyjątkiem jest konieczność zapewnienia drobnoustrojom składników pokarmowych do ich rozwoju. Doktorantka dowiodła i potwierdziła w swoich badaniach istotny wpływ azotu, stosowanego w zróżnicowanych dawkach na zawartość WWA, chociaż wpływ był zróżnicowany co do lat, zmianowania a więc i uprawianych roślin czy wapnowania. Już sama analiza tylko wpływu dawek N czy udziału obornika na tle lat badań dowodzi, że jednoznaczne uogólnienia zaistniałych przyczyn zróżnicowanych zmiennych zawartości WWA sprawiają pewną trudność. W moim przekonaniu to skutek złożoności samych przemian WWA, wynikających z nakładania się działania każdego z tych czynników np. na zmiany właściwości gleby i to nawet w ramach jednego sezonu wegetacyjnego, co Doktorantka dobitnie wykazała na przykładzie 2015 roku. Potwierdzają to również dane dotyczące analiz mikrobiologicznych gleby, której nie można w przypadku WWA pominąć w aspekcie znaczenia chociażby rizosfery. Tym bardziej, że dane literaturowe dowodzą iż właśnie w jej obrębie dochodzi do intensywnych procesów prowadzących do biodegradacji WWA. Podkreślić należy również, że uzyskane wyniki w pełni potwierdzają liczne doniesienia literaturowe o bardzo zróżnicowanym działaniu poszczególnych czynników na przemiany WWA. Ujawnia się to głównie w analizie wielu WWA, w mniejszym stopniu przy badaniu jednego czy dwóch węglowodorów, jak to ma na ogół miejsce. Zmiany takie w pracy można obserwować m.in. na przykładzie uprawianych roślin, gdzie nie zawsze zastosowaniu obornika towarzyszył wzrost zawartości WWA. Poza tym od lat autorzy wielu prac dowodzą o mocno zróżnicowanym stopniu degradacji WWA. Jednak nie dysponując dokładnymi źródłami, z jakich WWA dostają się do gleby i ich bilansem, trudno jest czasem jednoznacznie ocenić przyczyny obserwowanych zmian. Zmian często dość wyraźnych na co Doktorantka zwróciła uwagę w pracy. Ale jedną z przyczyn tych zmiennych różnic ilościowych WWA należy niewątpliwie upatrywać w działania każdego z czynników, jak i w ich współdziałaniu. Jednak w odniesieniu do pracy nie zawsze daje się to logicznie wyjaśnić. Dlatego uważam, że Doktorantka miała tego świadomość, stąd i we wnioskach zawarła czasem ostrożne ale przemyślane uogólnienia.

Chciałbym jeszcze zwrócić uwagę na jeden aspekt pracy. Z naukowego, ale nie tylko punktu widzenia za ważne uważam wyartykułowanie przez panią mgr inż. Mackiewicz-Walec ujawnionej tendencji zwiększonych (choć nie zawsze istotnie zróżnicowanych) zawartości WWA „lekkich” w warstwie 30-60 cm gleby, w porównaniu do warstwy ornej. I brak tak wyraźnych różnic w przypadku WWA „ciężkich”. Niewątpliwie ma rację Doktorantka, że to może być skutek łatwiejszego przemieszczania się WWA poza poziom 0-30 cm. Co prawda Autorka nie podjęła szerszej dyskusji w tym problemie, ale można go niewątpliwie łączyć m.in. z obecnością związków próchnicznych, głównie niskocząsteczkowych. Poza tym w badaniach zwraca się również uwagę na znaczenie agregacji gleby, z czym wielu autorów wiąże nie tylko sorpcję, ale i możliwość właśnie migracji tych związków do niższych poziomów. W kontekście powyższych informacji Doktorantka trafnie zauważyła, że suma WWA była wyższa w warstwie 0-30 cm, głównie za sprawą „ciężkich” WWA, akumulowanych właśnie w tym poziomie gleby. To kolejne ważne spostrzeżenie nie tylko z naukowego ale i poznawczego punktu widzenia. Tym bardziej, że z analizy literatury wynika, że poważne miejsce w badaniach WWA zajmuje ich występowanie w wodach gruntowych, co

częściowo może mieć także związek z występowaniem w glebie WWA, w formach tzw. łatwo dostępnych, czyli rozpuszczalnych. I to zgadzałyby się ze spostrzeżeniami pani mgr inż. Mackiewicz-Walec o migracji „lekkich” węglowodorów, a więc tych zawierających 2-4 pierścieni.

Oceniając tę wielowątkową i w moim przekonaniu obszerną dysertację, pozbawioną poważniejszych uchybień, pragnę jednak zwrócić uwagę na kilka drobnych nieścisłości, które z obowiązku recenzenta chciałbym przekazać autorce pracy:

- wymieniając podział WWA na „lekkie” i „ciężkie” należy wg mnie dokładniej precyzować kryterium tego podziału. Nie można pisać, że „lekkie” to te, które zawierają do 5 pierścieni, tylko, że tym mianem określa się WWA zawierające od 2 do 4 pierścieni, a „ciężkie” od 5 do ... pierścieni,
- warto również nadmienić, że to nie jest jedyny podział spotykany w literaturze. Stosuje się także podział na „lekkie” zawierające 2 lub 3 pierścienie i „ciężkie” posiadające powyżej 3 pierścieni (Milne i in. 1998). Poza tym spotyka się także podział na WWA „małe”, zawierające do 6 skondensowanych pierścieni aromatycznych i „duże”, zawierające powyżej 6 pierścieni (Abdel-Shafy, Mansour 2016),
- w pracy wspomniano o niezbędności składników pokarmowych do degradacji WWA i stosunku C : N. Według mojej wiedzy niezbędne są i inne składniki odżywcze, w tym na ogół podkreśla się obecność fosforu, a więc C : N : P (Ghaly, et al. J Bioremed Biodeg 2013, S5),
- gramatycznego przereformowania wymaga zdanie (str.24, 3 góra): Główną rolę podczas transportu HOCs jest ograniczenie....
- przygotowując pracę do druku, proponuję przemyśleć czy dane dotyczące składu obornika (str.26) nie zawrzeć w tabeli? Według mnie zdecydowanie to poprawi czytelność tak dużej ilości danych?
- podając w pracy zastosowane metody analityczne na ogół podaje się źródło ich pochodzenia, bez względu na rodzaj metod. W dysertacji podano je dla analiz mikrobiologicznych, ale pominięto w analizie gleby. W przypadku azotu zamiast opisu analizy, chyba celowe będzie podanie, że oznaczano go metodą Kjeldahla?,
- proponuję unikać pisania pojęcia np. „znacznie mniejszy wpływ”, „znaczący wpływ” (str.52), „znacznie ograniczają ten wpływ” itp., ponieważ w moim przekonaniu to nic nie oznacza. Stąd winno pisać się np. że wykazano istotny (nieistotny) wpływ lub trend czy kierunek zmian?
- pod dyskusję poddaję zapis „Wzrastające dawki azotu zwiększały zawartość węgla organicznego ... Według mnie to nie dawki coś zmieniają, tylko zmiany te zachodzą pod wpływem stosowanego azotu w różnych dawkach?”,
- opisując ryc. 3 doktorantka zapisała „O silnej współzależności zawartości C_{org.} i N_{og.} świadczy otrzymana istotna korelacja”. Przy $r = 0,50$ wg trudno mówić o silnej zależności, bowiem wg różnych podziałów może to być średnia lub ewentualnie wysoka zależność (istotna lub nie). Tym bardziej, że N_{og.} wyjaśnia tę istotność zaledwie w 25%?

- proponuję zrezygnować z pisania typu: „można stwierdzić” (np. str. 61, 2 dół), a ująć w zapisie: „Stwierdzono, że...”.
- Moim zdaniem wnioski mimo, że zawierają podsumowanie najważniejszych, stwierdzonych w pracy uogólnionych wyników i spostrzeżeń, wymagają pewnego preredagowania gramatycznego i stylistycznego. Np. wniosek 5 wg mojej propozycji winien brzmieć: Stwierdzono, że spośród uprawianych roślin kukurydza sprzyjała gromadzeniu się w glebie „ciężkich” WWA, z kolei pszenica jara zmniejszeniu tych zawartości” lub (6):”Stwierdzono zwiększone zawartości WWA w glebie w latach z mniejszymi opadami”. A w (8):” Z analizy danych wynika, że zawartość WWA w glebie charakteryzowała duża zmienność sezonowa, determinowana przebiegiem warunków pogodowych i aktywnością mikrobiologiczną”.

Jednocześnie nadmieniam, że poczynione uwagi w żadnym stopniu nie mają wpływu na wartość merytoryczną pracy, a jedynie stanowią propozycję do przemyślenia celem większej przejrzystości niektórych fragmentów tekstu.

4. Wniosek końcowy

Analiza tekstu recenzowanej pracy autorstwa pani mgr inż. Mackiewicz-Walec pod kątem wartości merytoryczno-naukowej skłania mnie do wystawienia wysokiej oceny. Zwracam przede wszystkim uwagę na dużą aktualność problematyki zawartej w pracy, wymagającej od Doktorantki niezwyklego zaangażowania z jednej strony pod względem „technicznego” wykonawstwa, z drugiej naukowego opracowania uzyskanych wyników. Przy tak obszernym materiale dotyczącym danych Doktorantka wykazała dużą umiejętność ich syntezy ukazanej głównie w formie graficznej, wykorzystując do tego „aparaturę” statystyczną. Co prawda niekiedy omówienie danych przeprowadzono zbyt drobiazgowo ale to nie miało wpływu na całokształt wartości pracy.

Dlatego stwierdzam, że praca autorstwa mgr inż. Mackiewicz-Walec **spełnia wymogi** stawiane rozprawom doktorskim, określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z póź. zmianami, tekst jednolity: opracowano na podstawie: Dz. U. z2016 r., poz. 882, 1311), a także określone w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26 września 2016 r. (Dz. U. poz. 1586) w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadaniu tytułu profesora).

Mając powyższe na uwadze wnioskuję o:

- **dopuszczenie mgr inż. Ewie Mackiewicz-Walec do dalszych etapów przewodu doktorskiego,**
- **wyróżnienie pracy doktorskiej pani mgr inż. Mackiewicz-Walec**

Prof. dr hab. Jacek Czekala

