

Recenzja pracy doktorskiej
mgr inż. Grażyny Kaczyńskiej
nt. „Remediacja gleby zanieczyszczonej produktami ropopochodnymi”

Przedstawiona do oceny praca doktorska została wykonana w Zakładzie Mikrobiologii na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko- Mazurskiego w Olsztynie, pod kierunkiem prof. dr hab. Jadwigi Wyszowskiej, prof. zw.

W Polsce największe zagrożenie dla środowiska przyrodniczego stanowią zanieczyszczenia wód i gleby substancjami powstającymi w trakcie przetwórstwa, dystrybucji i transportu ropy naftowej oraz jej pochodnych. Usuwanie skutków skażenia tymi substancjami jest procesem długotrwałym, wymagającym stosowania skomplikowanych technologii, a tym samym kosztownym. Dlatego też należy rozwijać technologie służące odnowie środowiska, które gwarantują wysoką skuteczność rekultywacji przy mniejszych kosztach. Do nich należy zaliczyć usuwanie różnego rodzaju zanieczyszczeń z wykorzystaniem żywych mikroorganizmów (biotechnologii). Biotechnologie należą do grupy dynamicznie rozwijających się dziedzin z pogranicza nauki i technologii. Posiadają też olbrzymią zaletę, ponieważ procesy biologiczne przebiegają w naturalnych warunkach, bez udziału chemicznych katalizatorów, co powoduje, że są one znacznie mniej energochłonne niż tradycyjne technologie chemiczne. Metody biologicznej odnowy gleby należy uznać za najbardziej przyjazne dla środowiska, ponieważ z reguły wywodzą się bezpośrednio z procesów naturalnie w nim zachodzących. Dlatego też najlepszym sposobem remediacji gleby skażonej jest stworzenie organizmom znajdującym się w zanieczyszczonym środowisku możliwie najkorzystniejszych warunków rozwoju.

Poznanie reakcji mikroorganizmów, co było przedmiotem rozprawy doktorskiej, na produkty ropopochodne w warunkach kontrolowanych w doświadczeniach laboratoryjnych jest bardzo cenne. Dlatego też podjęte przez Autorkę kompleksowe badania prowadzące do

poznania skutków oddziaływania produktów ropopochodnych na mikroorganizmy glebowe i ich aktywność biochemiczną stanowią niezwykle ważną i bardzo aktualną tematykę badawczą.

Praca doktorska mgr inż. Grażyny Kaczyńskiej została przygotowana zgodnie z wymogami stawianymi tego typu opracowaniom. Tekst pracy obejmuje: wstęp, przegląd literatury, metodykę badań, wyniki badań, dyskusję wyników, wnioski, piśmiennictwo oraz streszczenie w j. polskim i j. angielskim.

Tytuł pracy odpowiada zakresowi wykonywanych przez Autorkę badań.

W rozdziale „Wstęp” mgr inż. G. Kaczyńska przedstawiła tematykę prowadzonych badań, podając krótką charakterystykę produktów ropopochodnych, oraz zagrożeń wynikających z przenikania tych odpadów do środowiska glebowego. Rozdział ten zakończyła celem badań, który obejmował:

1. Określenie wskaźników aktywności mikrobiologicznej i biochemicznej gleby zanieczyszczonej biodieslem, olejem napędowym, olejem opałowym i benzyną bezołowiową 98;
2. Identyfikację bakterii glebowych degradujących badane produkty ropopochodne;
3. Określenie roli mocznika i kompostu w przywracaniu równowagi biologicznej gleby zanieczyszczonej produktami ropopochodnymi.

Podstawy teoretyczne założonych celów badawczych mgr inż. Grażyna Kaczyńska przedstawiła na 22 stronach w bardzo dobrze opracowanym rozdziale „Przegląd literatury”. Autorka w podrozdziałach dokonała przeglądu krajowej i światowej literatury dotyczącej charakterystyki produktów ropopochodnych tj. biodiesla, oleju napędowego, oleju opałowego, benzyny bezołowiowej 98, losów substancji ropopochodnych w glebie, oddziaływania produktów ropopochodnych na drobnoustroje glebowe i ich aktywność biochemiczną, mikrobiologicznej degradacji produktów ropopochodnych oraz bioremediacji gleb poddanych presji produktów ropopochodnych. Mgr inż. G. Kaczyńska z liczącej 344 pozycji literatury przedmiotu właściwie wybrała i przedstawiła najnowsze badania naukowe (ponad 70 % pochodzi z ostatnich 10 lat) dotyczące tematyki przedstawionej w dysertacji. Cytowania literatury i odsyłacze nie budzą zastrzeżeń.

W kolejnym rozdziale ocenianej rozprawy doktorskiej pt. Metodyka badań, Autorka zamieściła charakterystykę przedmiotu badań, procedurę eksperymentalną, analizy mikrobiologiczne, biochemiczne oraz metodykę obliczeń i opracowania statystycznego.

Doświadczenia zostały poprawnie zaprojektowane pod względem metodycznym. Dobrze dobrane metody analityczne uwiarygodniają uzyskane wyniki, które zostały zaprezentowane w rozdziale pt. "Wyniki badań". Badania wykonano w doświadczeniach laboratoryjnych. W celu określenia wskaźników aktywności mikrobiologicznej i biochemicznej gleby zanieczyszczonej produktami ropopochodnymi takimi jak: biodiesel, olej napędowy, olej opałowy i benzyna bezołowiowa 98 wykorzystano glebę o składzie granulometrycznym piasku gliniastego. Do biostymulacji naturalnej mikrobionty glebowej zastosowano kompost i mocznik. Kolejne doświadczenie było poświęcone identyfikacji bakterii glebowych degradujących produkty ropopochodne. W 15., 30., 60., 90., 180. dniu inkubacji gleby określano liczebność bakterii: organotroficznych, amylolitycznych, proteolitycznych, lipolitycznych, amonifikacyjnych, z rodzaju *Azotobacter*, promieniowców oraz grzybów. Dodatkowo wykorzystując metodę NPL oznaczono liczbę bakterii nityfikacyjnych fazy I i II. Analizy biochemiczne dotyczyły aktywności następujących enzymów glebowych: katalazy, fosfatazy kwaśnej i alkalicznej, ureazy, arylosulfatazy, β -glukozydazy. W celu identyfikacji bakterii glebowych degradujących produkty ropopochodne założono doświadczenie z badanymi produktami ropopochodnymi w dawce $16,0 \text{ g/kg}^{-1}$ s.m. gleby. Wyodrębnione szczepy zostały zidentyfikowane metodą analizy sekwencji 16S rRNA w firmie A&A Biotechnology w Gdyni. Otrzymane obszerne wyniki badań pozwoliły na wyliczenie bardzo interesujących, wzbogacających pracę parametrów: współczynnika rozwoju kolonii CD, współczynnika ekofizjologicznej różnorodności EP, liczbę kolonii wyrastających w określonych przedziałach czasowych Ks, wskaźnika wpływu produktu ropopochodnego, wskaźnika wpływu substancji stymulującej. Do obliczeń statystycznych zastosowano pakiet statystyczny Statistica V. 12.0 oraz oprogramowanie Canoco v 5.0. Obliczono także współczynniki korelacji prostej Pearsona pomiędzy zmiennymi oraz procent zmienności wszystkich analizowanych zmiennych z wykorzystaniem analizy wariancji – Anova. Ponadto zastosowano wielowymiarowe analizy danych w postaci analizy skupień (metoda Warda) oraz analizy składowych głównych (PCA). Do utworzenia drzewa filogenetycznego na podstawie pozyskanych fragmentów DNA wykorzystano program MEGA 7.0.26. Zastosowane metody badań i obliczenia statystyczne nie budzą zastrzeżeń.

Bardzo liczne wyniki badań Autorka przedstawiła na 91 stronach w rozdziale „**Wyniki badań**” który podzieliła na podrozdziały i podpodrozdziały co ułatwiło Jej prawidłowe ich omówienie. Ta część dotyczy szczegółowego, bardzo poprawnego omówienia rezultatów oddziaływania produktów ropopochodnych na badane parametry gleby, zarówno mikrobiologiczne, biochemiczne, jak też fizykochemiczne. Doskonałym uzupełnieniem

omówienia wyników jest dokumentacja w postaci zróżnicowanej strony graficznej. Wyniki z przeprowadzonych badań Autorka przedstawiła w 30 tabelach oraz na 162 rysunkach. Mimo obszernych badań, Autorka w sposób zwięzły, logiczny i rzeczowy przedstawiła tak dużą liczbę wyników.

W kolejnym rozdziale pt.: „Dyskusja wyników” podzielonym na 2 podrozdziały, Autorka wykazała dobrą znajomość omawianych w pracy problemów i umiejętność porównywania ich z badaniami innych autorów. Piśmiennictwo jest trafnie dobrane i cytowane w powiązaniu z uzyskanymi wynikami badań własnych.

W rozdziałach „Podsumowanie” i „Wnioski” Autorka przedstawiła najważniejsze, istotne wnioski wynikające z przeprowadzonych badań.

Do najważniejszych spostrzeżeń i wniosków przedstawionych przez Autorkę, według mojej oceny należy zaliczyć, że:

- Aktywność biochemiczna gleby była kształtowana poprzez wprowadzenie do niej produktów ropopochodnych
- Aktywność badanych enzymów determinowana była rodzajem produktu ropopochodnego wprowadzonego do gleby.
- Wpływ produktów ropopochodnych na badane mikroorganizmy utrzymywał się przez cały okres badań.
- Wzbogacenie gleby w substancję organiczną w postaci mocznika oraz kompostu stymulowało namnażanie się drobnoustrojów i wzmagало aktywność enzymów glebowych, przy czym kompost okazał się lepszym biostymulatorem drobnoustrojów niż mocznik
- Zidentyfikowane w badaniach drobnoustroje należą do głównych phylum α - Proteobacteria, γ -Proteobacteria, Firmicutes i Actinobacteria odpowiedzialnych za degradację zanieczyszczeń ropopochodnych.

Autorka zamieściła w rozdziale „Spis literatury” bogate piśmiennictwo krajowe i zagraniczne, obejmujące 344 pozycje. Większość pozycji stanowi najnowsza literatura przedmiotu, pozycje starsze były niezbędne do prawidłowego wykonania badań i opracowania otrzymanych wyników.

Praca została przygotowana bardzo starannie, poprawnie stylistycznie, z wykorzystaniem specjalistycznego słownictwa. Dokumentacja wyników jest bardzo

dokładnie wykonana. Obszerne wyniki badań świadczą o dobrej znajomości problematyki badawczej oraz o dobrym opanowaniu warsztatu badawczego przez Autorkę. Całość pracy tworzy spójną, logiczną całość a to dowodzi, że mgr inż. G. Kaczyńska posiada wiedzę niezbędną do właściwej oceny otrzymanych wyników badań. Praca stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe w zakresie oceny oddziaływania produktów ropopochodnych na środowisko glebowe. Bardzo dobrze przygotowany przegląd literatury oraz rezultaty kompleksowych badań świadczą o wystarczającej ogólnej wiedzy teoretycznej i metodycznej mgr inż. Grażyny Kaczyńskiej. Na podkreślenie zasługuje wskazanie najistotniejszych wskaźników jakie powinny być brane pod uwagę do oceny stanu zanieczyszczenia gleby produktami ropopochodnymi w celu przywrócenia jej równowagi biologicznej. Celowe, zarówno z punktu widzenia ochrony środowiska, jak też ekonomicznego byłoby kontynuowanie badań z produktami ropopochodnymi w doświadczeniach polowych.

Zauważone błędy natury technicznej zaznaczyłam w tekście pracy i przekazałam je Autorce. Uwagi te są mało istotne i nie wpływają na wartość merytoryczną ocenianej rozprawy doktorskiej.

Biorąc pod uwagę wszystkie aspekty przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej pt. **„Remediacja gleby zanieczyszczonej produktami ropopochodnymi”** stwierdzam, że spełnia ona wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim w Artykule 13 Ustawy o Stopniach i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki stawiam wniosek do Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr inż. Grażyny Kaczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Treść pracy kwalifikuje Kandydatkę do ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych w zakresie dyscypliny naukowej *ochrona i kształtowanie środowiska*.

Prof. dr hab. Stefania Jezierska-Tys

