



Dr hab. inż. Agnieszka Mocek-Płóćiniak

Poznań, dnia 13.03.2019 rok

Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Rafała Strachela

pt.:

„Przywracanie homeostazy gleby zanieczyszczonej cynkiem”

wykonanej w Katedrze Mikrobiologii na Wydziale Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Promotor: prof. dr hab. Jadwiga Wyszowska

Promotor pomocniczy: dr inż. Małgorzata Baćmaga

1. Wprowadzenie

Niniejsza recenzja została przygotowana w odpowiedzi na pismo Pana Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie prof. dr. hab. Krzysztofa Młynarczyka, wraz z informacją, iż decyzją Rady Wydziału zostałam powołana na recenzentkę ww. pracy.

2. Ocena problematyki badawczej pracy

Dynamiczny wzrost gospodarczy zapoczątkowany w latach 60. i 70. XX wieku przyczynił się do intensywnego rozwoju przemysłu wydobywczego i przetwórstwa surowców naturalnych, głównie energetycznych, skalnych czy rud metali, które jednocześnie generowały spore powierzchnie wymagające natychmiastowej rekultywacji. Wydobycie i przetwarzanie cynku cieszyło się dużym zainteresowaniem już w XVIII wieku i od tego czasu znalazło zastosowanie w wielu dziedzinach życia, mając niebagatelny wpływ na rozwój współczesnej

cywilizacji. Ksenobiotyk ten jest naturalnym elementem skorupy ziemskiej, a rudy cynkowe zawierają w swoim składzie wiele innych pierwiastków śladowych np. Cd, Pb, Cu i Au. Ilość cynku w środowisku zależy zarówno od procesów naturalnych, jak i antropogenicznych. Do czynników naturalnych decydujących o jego zawartości należą: odczyn, skład granulometryczny, rodzaj skały macierzystej, pojemność sorpcyjna, zawartość materii organicznej, potencjał oksydo-redukcyjny, roślinność, aktywność mikroorganizmów w niej bytujących oraz procesy wulkaniczne. Do antropogenicznych czynników zanieczyszczenia gleby cynkiem zalicza się procesy wydobywania i przetwarzania rud metali, spalanie paliw kopalnych czy deponowanie odpadów komunalnych. Metal ten jest ponadto składnikiem wielu stopów, zapobiega korozji stali, służy do produkcji gum, tworzyw sztucznych, pestycydów, barwników oraz smarów. Ma zastosowanie przy produkcji baterii, rur, sprzętu elektronicznego, wyposażenia samochodowego. Używa się go również w stomatologii czy medycynie, przy produkcji odczynników chemicznych, farb, lakierów, nawozów sztucznych czy w przemyśle pirotechnicznym. Niewątpliwym źródłem cynku dla środowiska jest także transport, a duże ilości tego metalu obserwuje się szczególnie na terenach o wzmożonym ruchu drogowym oraz w glebach miejskich.

W celu niwelowania negatywnego oddziaływania cynku na biocenozę poszukuje się skutecznych metod rekultywacji gleb poddanych presji metali ciężkich. Techniki remediacji gleby polegają na zastosowaniu dwóch procesów – kosztownej ekstrakcji oraz tańszej stabilizacji „*in situ*” mającej zastosowanie na dużych, zanieczyszczonych obszarach. Transformacja metali ciężkich, w związki o mniejszej toksyczności lub ich unieruchamianie - w wyniku czego zmniejsza się ich biodostępność - wydają się najkorzystniejszymi procesami prowadzącymi do przywrócenia homeostazy w glebie. Ekonomiczne uzasadnienie z punktu widzenia środowiskowego zyskuje chemiczna stabilizacja zanieczyszczeń, w wyniku której do gleby wprowadza się substancje organiczne i nieorganiczne posiadające duże zdolności sorpcyjne. Właściwości tych substancji wpływają na zmniejszenie biodostępności metalu oraz ograniczenie ich negatywnego oddziaływania na organizmy żywe czy rośliny. Ponadto przyczyniają się do promowania wzrostu drobnoustrojów glebowych, co w konsekwencji wpływa na zwiększenie aktywności biochemicznej gleby i wzrost jej żyzności. Dodatek takich substancji jak kompost, słoma, mocznik, biowęgiel, bentonit czy węgiel wapnia może prowadzić do poprawy kondycji gleby, uzupełniając zasoby materii organicznej (głównie węgla i azotu). Zagadnieniom powyższym poświęcona została recenzowana dysertacja, mająca na celu określenie skuteczności aplikacji węgla wapnia, mocznika, kompostu oraz substancji sorbujących, tj. alginianu, biowęgla, sepiolitu, haloizytu kalcynowego i sita molekularnego w remediacji gleby zanieczyszczonej cynkiem.

3. Formalna analiza pracy doktorskiej

Przedłożona do oceny dysertacja stanowi jednotematyczny cykl 5 publikacji, które ukazały się w latach 2017-2018. Zostały one zaprezentowane w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, zamieszczonych w wykazie A MNiSW. Wszystkie prace przygotowano w języku angielskim w periodykach o IF wahającym się od 0,684 do 1,769. Łączny współczynnik oddziaływania publikacji składających się na osiągnięcie naukowe wyniósł 6,77 (zgodnie z rokiem opublikowania), a liczba punktów wg oceny czasopism dokonanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego wyniosła 105 punktów. Najogólniej ujmując wspomniany cykl publikacji dotyczy określenia skuteczności aplikacji węgla wapnia, mocznika, kompostu oraz substancji sorbujących, tj., alginianu, biowęgla, sepiolitu, halozytu kalcynowego i sita molekularnego w remediacji gleby zanieczyszczonej cynkiem. Badania z wykorzystaniem piasku gliniastego prowadzono w warunkach laboratoryjnych (dawki Zn^{2+} na kg^{-1} gleby to 0, 250, 500, 750, 1000, 1250, czas inkubacji 30 i 60 dni) oraz wegetacyjnych wazonowych (dawki Zn^{2+} na kg^{-1} gleby to 0, 100, 300, 900, czas inkubacji 30 i 60 dni) na roślinie testowanej, jaką była kukurydza. Oceny zmian środowiska glebowego dokonano na podstawie właściwości mikrobiologicznych, biochemicznych i fizyczno-chemicznych. Ponadto określono wpływ badanych czynników na plonowanie kukurydzy oraz zawartość cynku zarówno w glebie, jak i roślinie.

Wszystkie prace Doktorant przygotował z promotorem głównym oraz pomocniczym, jako współautorami. Udział mgr. inż. Rafała Strachela we wspomnianym cyklu publikacji wynosił od 60 do 80% i polegał najczęściej na przeprowadzeniu analiz mikrobiologicznych i biochemicznych, analizie statystycznej wyników, przygotowaniu wstępnej wersji publikacji oraz wykonania korekty wydawniczej.

Zaprezentowane prace tworzą logiczną całość. Dowodzi to o dobrze przemyślanej koncepcji opracowania. Doktorant podjął się oceny możliwości wykorzystania substancji posiadających duże zdolności sorpcyjne w stosunku do metalu ciężkiego – cynku, określenia destrukcyjnego wpływu tego metalu na stan homeostazy gleby, plonowanie kukurydzy oraz właściwości mikrobiologiczne, biochemiczne i fizykochemiczne gleby. Język przygotowanych publikacji jest bardzo poprawny, co wynika z ich wcześniejszego opublikowania, a bardzo sporadyczne „niezręczności” (patrz uwagi) nie obniżają bardzo wysokiej wartości merytorycznej przedstawionej dysertacji.

Wysoko oceniam także starannie opracowane tabele i rysunki, które poprawiają przejrzystość publikacji i tym samym ułatwiają prześledzenie ich wielowątkowości. Sformułowane

wnioski wynikają z treści opracowań i stanowią poprawne uogólnienie uzyskanych wyników, popartych niezbędną analizą statystyczną. Nieliczne z nich mają wprawdzie charakter bardziej wynikowy niż wnioskowy, ale zdecydowaną większość stanowią cenne wnioski dotyczące zarówno oceny wpływu różnych dawek cynku na liczebność i aktywność enzymatyczną wielu ważnych grup drobnoustrojów, jak i wzrost, rozwój i plonowanie kukurydzy. Wskazują także, które z dodanych sorbentów poprawiały ważne parametry fizykochemiczne badanej gleby nie ograniczając zarazem ilości biodostępnego cynku w glebie. Ostatni sformułowany wniosek poza aspektami poznawczymi ma także cenną wartość praktyczną. Doktorant jednoznacznie dowiódł, że spośród testowanych sorbentów (alginit, biowęgiel, sepiolit, haloizyt kalcynowany i sito molekularne), najskuteczniejsze w przywracaniu równowagi mikrobiologicznej i biochemicznej środowiska glebowego okazało się sito molekularne. To utylitarne stwierdzenie może być – po uwzględnieniu rachunku ekonomicznego – wykorzystywane w rekultywacji gleb sąsiadujących z hutami metali kolorowych, w tym przede wszystkim hutami cynku. Literatura przedmiotu jest bardzo obszerna i trafnie dobrana. W zdecydowanej większości cytowane prace są anglojęzyczne i pochodzą z ostatnich lat. Reasumując zbiór artykułów stanowi znaczący wkład Autora w rozwój dyscypliny ochrona i kształtowanie środowiska.

4. Merytoryczna ocena pracy doktorskiej

Cykl zaprezentowanych publikacji powstał na podstawie wyników pochodzących z trzech doświadczeń laboratoryjnych oraz jednego doświadczenia wegetacyjnego (wazonowego), zrealizowanych w Katedrze Mikrobiologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Badania prowadzono na próbkach gleby, która pod względem uziarnienia należała do piasku gliniastego, pobranego z poziomu orno-próchnicznego (0-20 cm) gleby brunatnej typowej. Do gleby wprowadzono w odpowiednich ilościach metal ciężki, jakim był cynk, w postaci wodnego roztworu $ZnCl_2$. W celu zniwelowania negatywnego działania wspomnianego ksenobiotyku na właściwości mikrobiologiczne, biochemiczne i fizyczno-chemiczne gleby, w doświadczeniach laboratoryjnych zastosowano następujące dodatki, tj. węgiel wapnia, mocznik i kompost, natomiast w doświadczeniu wegetacyjnym wazonowym testowano pięć sorbentów, do których należały: alginit, biowęgiel, sepiolit, haloizyt oraz sito molekularne. Analizowanymi parametrami mikrobiologicznymi były następujące mikroorganizmy glebowe: bakterie organotroficzne, bakterie oligotroficzne, bakterie koptotroficzne, promieniowce i grzyby. Ponadto badano aktywność wybranych enzymów glebowych: dehydrogenaz, katalazy, ureazy, fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz β – glukozydazy. Wśród parametrów fizyczno-chemicznych, obok uziarnienia, skupiono się na analizie odczynu (pH), kwasowości hydrolitycznej, sumy zasad kationów wymiennych. Obliczono także kationową pojemność wy-

mienną, stopień wysycenia kompleksu sorpcyjnego jonami zasadowymi oraz określono zawartość cynku ogółem i cynku przyswajalnego. W przeprowadzonych badaniach obliczono również następujące wskaźniki: indeks rozwoju kolonii, współczynnik ekofizjologicznej różnorodności, biochemiczny wskaźnik jakości gleby, indeks oporności, wskaźnik powrotu gleby do stanu równowagi, indeks wpływu cynku, indeks biostymulacji oraz indeks oddziaływania sorbentów. Uzyskane wyniki badań opracowano skrupulatnie, wykorzystując nowoczesne narzędzia statystyczne.

Zastosowane metody analityczne były prawidłowe i nie budzą wątpliwości. Świadczy to o bardzo dobrym i wszechstronnym opanowaniu przez Doktoranta warsztatu badawczego zarówno z zakresu gleboznawstwa, mikrobiologii, jak i enzymologii. Sformułowano trzy hipotezy badawcze, których weryfikacja pozwoliła na wyznaczenie 4 głównych celów badawczych. Wykonanie wielu specjalistycznych analiz było możliwe dzięki świetnie wyposażonej jednostce naukowej w aparaturę pomiarową oraz ogromnemu doświadczeniu promotorki głównej w przedmiotowej tematyce oraz podążającej Jej śladami promotorce pomocniczej.

Interpretację rezultatów uzyskanych analiz zaprezentowano w bardzo szczegółowy i czytelny sposób. W przedstawionych pracach skomentowano wpływ cynku na najważniejsze parametry fizyczno-chemiczne, mikrobiologiczne i biochemiczne gleby oraz reakcje tych parametrów na aplikacje substancjami pozwalającymi na remediację terenów zanieczyszczonych ksenobiotykami mineralnymi. Ponadto starano się określić wpływ badanych czynników na plonowanie rośliny testowej oraz zawartość cynku w części nadziemnej i korzeniu kukurydzy.

W dyskusji Doktorant umiejętnie powiązał rezultaty swoich badań z danymi bogatej literatury przedmiotu. W rozdziale 9 „Wnioski” mgr inż. Rafał Strachel wysunął szereg obszernych konkluzji, na podstawie których można było jednoznacznie stwierdzić, że reakcja testowanych parametrów na zanieczyszczenie gleby cynkiem oraz aplikowane substancje remediacyjne była zróżnicowana w zależności od dawki metalu, rodzaju substancji oraz czasu jego oddziaływania. Zanieczyszczenie gleby cynkiem w ilości od 750 do 1250 mg Zn²⁺ kg⁻¹ gleby wpływało destrukcyjnie na stan homeostazy gleby, co przejawiało się niższą aktywnością biochemiczną oraz zmianami w różnorodności mikrobiomu glebowego. Ponadto zaobserwowano obniżenie plonu kukurydzy przy wprowadzeniu do gleby zanieczyszczenia w ilości 900 mg Zn²⁺ kg⁻¹ gleby. Wszystkie testowane substancje remediacyjne okazały się skuteczne w niwelowaniu negatywnego wpływu cynku na środowisko glebowe, jednak wprowadzone sorbenty nie przyczyniły się do ograniczenia biodostępności tego ksenobiotyku. Najbardziej efektywne w przywracaniu homeostazy gleby okazały się dodatki węglanu wapnia, mocznika, kompostu i sita molekularnego. W związku z czym substancje te mogą posłużyć do remedia-

cji gleb zanieczyszczonych cynkiem. Trzeba jednak zdawać sobie sprawę z faktu, iż sformułowanie powyższych wniosków odzwierciedla wyniki badań uzyskane w ściśle określonych i kontrolowanych eksperymentach (jedna gleba, ściśle ustalone dawki i czas oddziaływania cynku). W warunkach naturalnych rezultaty zaplanowanych badań mogą odbiegać od uzyskanych wyników ze względu na wpływ wielu czynników natury fizyczno-chemicznej (wilgotność, temperatura) oraz znacznie większej i różnorodnej puli mikrobiomu glebowego. Gleba bowiem w układzie naturalnym stanowi bardzo zróżnicowany układ buforujący, który nie zawsze tak wyraźnie łagodzi negatywny wpływ metali ciężkich na mikroorganizmy glebowe, aniżeli w przypadku prowadzenia tego typu badań w ściśle kontrolowanych doświadczeniach wazonowych.

Studiując tę niezwykle ciekawą dysertację nasunęły się nieliczne uwagi, które chciałabym z obowiązku recenzenta przekazać Doktorantowi.

Uwaga 1

Szkoda, że w autoreferacie przygotowanym z języku polskim (str. 19), poprzedzającym załączone publikacje stanowiące dysertację, Doktorant nie przytoczył szczegółowiej metodyki oznaczenia podstawowych parametrów fizykochemicznych (pojemność sorpcyjna, zawartość zasadowych kationów wymiennych – Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , kwasowość hydrolytyczna) oraz typowych chemicznych (pH, C_{org} , N_{og} , zawartość Zn^{2+}). Wprawdzie w pierwszej publikacji i autoreferacie przytoczono źródła, w których te metody są opisane (Carter 1993; Harris 2006), niemniej utrudnia to szybką ocenę zaprezentowanych wyników. Nie podano także w jakich wyciągach oznaczono zawartość cynku ogółem (HF, woda królewska itp.) i przyswajalnego (np. 1M HCl).

Uwaga 2

Podanie szeroko pojętych zdolności sorpcyjnych analizowanej gleby w $\text{mM}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby w przyszłości proponowałabym podawać w jednostce powszechniej funkcjonującej w naukach o glebie, czyli $\text{cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby [$10 \text{ mM}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby = $1 \text{ cmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby].

Uwaga 3

Na stronie 19 przy charakterystyce materiału macierzystego gleby brunatnej, z której pobrano próbki do badań napisano: „Na obszarze tym przeważają gleby brunatne typowe wytworzone głównie na piaskach i glinach”. Według mnie powinno być: „Na obszarze tym przeważają gleby brunatne typowe wytworzone z piasków polodowcowych i glin zwałowych”.

Uwaga 4

Termin działanie inhibicyjne cynku (patrz str. 29) proponuję zastąpić sformułowaniem: cynk wpływał inhibująco na aktywność enzymów (coś lub ktoś działa stymulująco, hamująco, inhibująco itp.).

Uwaga 5

Na stronie 35 pojawiła się drobna usterka stylistyczna. Dotyczy to zdania w 3 akapicie od końca strony: „Przyczyną tego może również być również pojawienie się wraz z czasem...”. Proponuję skorygować to zdanie w następujący sposób: „Przyczyną tego może być również pojawienie się wraz z upływem czasu...”.

Uwaga 6

Brak spójności przy dwóch pozycjach literaturowych:

- 1) Parabello i in. 2011 (str 37). W spisie literatury podano inny zapis Parabelo i in. 2011;
- 2) Civeria 2010 (str. 37). W spisie literatury figuruje Civeira 2010.

Brakuje także w autoreferacie pozycji: Bradl 2004, która zamieszczona została w spisie literatury.

5. Wniosek końcowy

Pracę doktorską mgr. inż. Rafała Strachela oceniam bardzo wysoko. Wnosi ona do literatury przedmiotu wiele nowych aspektów poznawczych i aplikacyjnych. Wskazuje na skuteczną możliwość wykorzystania zróżnicowanych sorbentów w remediacji gleby zanieczyszczonej cynkiem oraz ich pozytywne działanie głównie na właściwości fizykochemiczne gleb oraz plonowanie kukurydzy. Doktorant wykazał się bardzo dobrym opanowaniem wielu analiz stosowanych w badaniach środowiskowych. Postawiony cel był konsekwentnie realizowany, a uzyskane wyniki badań właściwie zinterpretowane oraz przedyskutowane na tle bardzo dobrze dobranej literatury przedmiotu (głównie anglojęzycznej).

Wymienione uwagi mają charakter uściślający, a zatem nie obniżają wartości merytorycznej przedstawionej pracy i mogą być jedynie przydatne przy referowaniu bądź publikowaniu dalszych wyników badań.

Jednocześnie stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska spełnia wszystkie wymagania stawiane dysertacjom, jakie są określone w Ustawie z dnia 14 marca

2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.).

Jednocześnie uwzględniając nowatorskie oraz bardzo wszechstronne podejście do podjętej tematyki badań i opublikowania wszystkich prac stanowiących rozprawę doktorską w czasopismach o znaczącym współczynniku wpływu, a tym samym o międzynarodowym zasięgu, wnoszę o stosowne jej wyróżnienie.

Wnioskuje zatem do Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pana mgr. inż. Rafała Strachela do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Agnieszka Maciej-Próchniak