

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, 12.07.2023 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Zieleźnik-Rusinowskiej pt. „Wpływ nawożenia i inokulacji mykoryzowej na wybrane parametry fizjologiczne u czterech gatunków roślin spontanicznie zasiedlających zwały skały płoniej”

1. Wprowadzenie

Ocena rozprawy doktorskiej została przygotowana w odpowiedzi na pismo z dnia 29.05.2023 r., informujące, że w dniu 26.05.2023 r., Rada Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach powołała mnie na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Pauliny Zieleźnik-Rusinowskiej pt. „Wpływ nawożenia i inokulacji mykoryzowej na wybrane parametry fizjologiczne u czterech gatunków roślin spontanicznie zasiedlających zwały skały płoniej”. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, pod kierunkiem dr hab. Eugeniusza Małkowskiego, prof. UŚ.

2. Ocena problematyki badawczej

Proces cywilizacyjny nasilający się w ostatnich dwóch wiekach sprawia, że badanie roślinności antropogenicznej, rozwijające się w nowych środowiskach, powstających w skutek gospodarczej działalności człowieka nabiera szczególnego znaczenia.

Niewątpliwie przykładem siedliska stworzonego przez człowieka są zwały karbońskiej skały płonnej, które są efektem ubocznym intensywnej eksploatacji węgla kamiennego. W krajobrazie miejsko-przemysłowym są obiektami o zupełnie odmiennych warunkach siedliskowych i stanowią wyspy środowiskowe, w których panują ekstremalne warunki abiotyczne (m.in. brak wody, niska trofia, zasolenie, zanieczyszczenie chemiczne, wysokie temperatury). Karbońska skała płona często uznawana była za pustynię biologiczną, na których żywe organizmy rozwijają się bardzo wolno lub nie występują. Pomimo niesprzyjających warunków zwałowiska skały płonnej są skutecznie kolonizowane przez rośliny oraz zwierzęta i sprzyjają rozwojowi roślinności, a procesy te są jeszcze słabo poznane.

Poznanie warunków środowiskowych karbońskiej skały płonnej (warunki stresowe) oraz jej modyfikacja np. przez różnej zabiegi biologiczne/agrotechniczne, może przyspieszyć procesy sukcesji zwałów powęglowych poprzez wspieranie naturalnej roślinności ruderalnej a w konsekwencji fitostabilizacji zwałowiska, a nawet rekultywacji, rewaloryzacji czy rewitalizacji tego terenu przemysłowego.

Rozprawa doktorska mgr Pauliny Zieleźnik-Rusinowskiej pt. „Wpływ nawożenia i inokulacji mykoryzowej na wybrane parametry fizjologiczne u czterech gatunków roślin spontanicznie zasiedlających zwały skały płoniej” podejmuje ważną, bardzo aktualną i interesującą problematykę badawczą, zarówno z punktu widzenia poznawczego jak i aplikacyjnego w naukach biologicznych i środowiskowych. Tematyka badawcza dotyczyła

oszacowania poziomu kolonizacji mykoryzowej oraz oceny parametrów fizjologicznych czterech gatunków roślin: trzcinnik piaskowy (*Calamagrostis epigejos*), wiechlina spłaszczona (*Poa compressa*), marchew zwyczajna (*Daucus carota*), podbiał pospolity (*Tussilago farfara*) uprawianych w warunkach doświadczenia wazonowego, w których testowane rośliny były inokulowane grzybami oraz zróżnicowanym nawożeniem mineralnym.

W dysertacji przedstawiono interesujący wstęp dotyczący problematyki zasiedlania zwałów karbońskiej skały płonnej, cel pracy, hipotezy badawcze, materiał i metody prowadzonych badań w warunkach doświadczeń wazonowych, następnie wyniki, dyskusję naukową, podsumowanie i wnioski oraz bibliografię.

3. Formalna analiza rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o oryginalne wyniki badań własnych i obejmuje 106 stron maszynopisu. W rozprawie zamieszczono 9 rozdziałów o następujących tytułach: 1. Wstęp, 2. Cele pracy i hipotezy badawcze, 3. Materiał i metody, 4. Wyniki, 5. Dyskusja, 6. Podsumowanie i wnioski, 7. Streszczenie, 8. Summary, 9. Literatura.

Rozprawa doktorska zawiera bogaty materiał dokumentacyjny, w tym: 6 tabel, 30 rycin. Bazę bibliograficzną rozprawy stanowi 235 pozycji literaturowych, które pod względem formalnym, merytorycznym są cytowane w sposób właściwy, adekwatny do tego typu opracowań naukowych.

Układ rozprawy doktorskiej Pani mgr Pauliny Zieleźnik-Rusinowskiej nie budzi zastrzeżeń, jest ograniczony do zagadnień merytorycznych, niezbędnych dla przeprowadzenia wywodu zgodnego z koncepcją Autorki.

4. Merytoryczna analiza rozprawy

Oceniana rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o uzyskane przez Autorkę oryginalne wyniki badań, które zostały przeprowadzone w warunkach doświadczenia wazonowego, w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach i były niezbędne do weryfikacji hipotez badawczych.

Istotnym aspektem poznawczym rozprawy doktorskiej była ocena możliwości kolonizacji mikoryzowej roślin spontanicznie występujących na zwałowiskach skały płonnej oraz ocena parametrów fizjologicznych odpowiedzialnych za stan podwyższonego stresu u roślin wywołanego czynnikami abiotycznymi zwałowiska.

Badania przeprowadzono w warunkach doświadczenia wazonowego na podłożu pochodzącego ze zwału węglowego w Gliwicach-Sośnicy. Było to doświadczenie dwuczynnikowe. Pierwszym czynnikiem doświadczalnym były 4 gatunki roślin, a drugim czynnikiem były rodzaje podłoża (9 obiektów): kontrola (obiekt K), inokulum komercyjne (obiekt M), inokulat wyizolowany ze zwału (obiekt Z), niskie nawożenie (obiekt N) i wysokie nawożenie (obiekt M), powyższe obiekty były aplikowane wyłącznie (osobno) do podłoża oraz jako mieszaniny (inokulaty z nawożeniem).

Doceniam duży nakład pracy badawczej włożonej w uzyskanie wyników, praca ma wiele aspektów nowatorskich, w tym charakter aplikacyjny, co podnosi wartość merytoryczną dysertacji. Na podstawie prowadzonych badań przez Autorkę, widzę aplikacyjny charakter tej pracy, że za pomocą fluorymetru, w warunkach terenowych, będzie można badać stres roślin występujących na zwałowiskach (sprawność aparatu fotosyntetycznego), i na podstawie tego parametru typować wybrane gatunki do zasiedlania kolejnych terenów przemysłowych, o podobnym warunkach siedliskowych, lub je stymulować je do intensywniejszego - szybszego zasiedlania zwałowiska.

Hipoteza badawcza rozprawy jest poprawnie sformułowana. Wstęp, który obejmuje przegląd literatury jest właściwie napisany, odnosi się do problematyki badawczej i aspektów utylitarnych w zakresie stresu abiotycznego i łagodzenia skutków tego stresu, wywołanego warunkami skały płonnej.

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 czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Uwagi przedstawiam poniżej:

Rozdział 3. Materiały i metody

W podrozdziale 3.1. materiał roślinny, w charakterystyce gatunków, warto było tutaj wspomnieć, że trzcinnik piaskowy również kolonizuje popioły paleniskowe, pochodzące ze spalania węgla kamiennego i które są często deponowane na składowiskach odpadów (popiołowych), Górnego Śląska. Zwracam na ten aspekt uwagę, ponieważ popioły paleniskowe charakteryzują się ekstremalnymi warunkami abiotycznymi, w których trzcinnik piaskowy rozwija się dobrze, a więc radzi sobie ze stresem wywołanym przez specyficzne podłoże, które jest podobne do zwałowiska karbońskiej skały płonnej (brak wody, duże zasolenie, wysoka temperatura). (Jest to tylko uwaga natury dyskusyjnej).

W podrozdziale 3.2. Warunki uprawy roślin Autorka pisze, że doniczki (uważam, że wazon) podlewano wodą kranową. Czy w tym doświadczeniu wazon były podlewane do stałej wagi ? Czy była określana całkowita pojemność wodna podłoża ?, w celu wyznaczenia określonej pojemności wodnej do podlewania, to jest do utrzymania jednakowej wilgotności we wszystkich obiektach ? W doświadczeniach wazonowych wyznacza się określoną pojemność wodną do podlewania, np. 40-50-60% maksymalnej pojemności wodnej ? W doświadczeniach wazonowych testowane rośliny podlewa się wodą destylowaną, aby uniknąć wpływu oddziaływania np. jonów wapnia (woda twarda) z zanieczyszczeniami metalowymi występującymi w podłożach (np. Ca i Cd, podobny promień jonowy, zachowanie w glebie, proces pobierania itp.).

Proszę podać więcej informacji na temat stratyfikacji nasion roślin testowych. Czy metoda stratyfikacji nasion była identyczna dla wszystkich gatunków ?

W rozdziale 3.4.4. Świeża masa pędów - nasunęła mi się uwaga metodyczna. Proponuję, na przyszłość, w następnych badaniach dokonywać pomiarów także suchej masy testowanych roślin, ponieważ materiał ten może być przedmiotem kolejnej analizy, w tym chemicznej, elementarnej. W swoim doświadczeniu wazonowym zastosowała Pani zróżnicowane nawożenie mineralne, które wpłynęło na skład chemiczny roślin. Więc warto byłoby wykonać analizę składu chemicznego i poszukać korelacji między parametrami fizjologicznymi a składem pierwiastkowym testowanych roślin. Pierwiastki występujące w roślinach, które są dostarczane z nawozami mineralnymi, są odpowiedzialne za łagodzenie/niwelowanie stresu, kondycję i wygląd rośliny (niedobory, nadmiary N, P, K, Mg, Ca itp.).

W rozdziale 3.5. Analiza statystyczna, przedstawia Pani jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. W mojej ocenie jest to poprawne, nie stanowi błędu metodycznego. Na przyszłość sugerowałbym wykonanie dodatkowej analizy statystycznej, to jest dwuczynnikowej, wykazania interakcji między obiektami. Interpretacja mogłaby dać nowe światło na uzyskane wyniki badań.

Wyniki badań

Rozdziały 4.1.-4.3

Przeprowadzenie analizy dwuczynnikowej pozwoliłoby na porównanie badanych parametrów między gatunkami roślin, oraz ocenę, który obiekt nawozowy był najbardziej optymalny w łagodzeniu stresu i adaptacji roślin do zasiedlania na symulowanym zwałowisku karbońskiej skały płonnej.

Proszę doprecyzować, czy analiza parametrów fizjologicznych była wykonywana w pędach (str. 39) czy w liściach (str. 43) na przykładzie *Poa compressa* ?

Na stronie 65, u rośliny *Daucus carota* zamieszczona jest informacja, że rośliny nie różniły się pod względem statystycznym – ja natomiast proponuję stwierdzić że czynnik doświadczalny, a więc obiekt nawozowy nie wpłynął istotnie na oceniane parametry związane z wydajnością fotosystemu PSI czy PSII. W tym podrozdziale Autorka dysertacji nie badała różnic między testowanymi gatunkami, co w mojej ocenie wniosło by jeszcze więcej ciekawych informacji do dyskusji i wnioskowania.

Na podstawie przeprowadzonej analizy fluorescencji chlorofilu można w przyszłości typować potencjalne gatunki do fitostabilizacji karbońskiej skały płonnej, czy też jako gatunki wskaźnikowe dla tych siedlisk. Podjęty aspekt badań fluorescencji chlorofilu oceniam bardzo wysoko.

Dyskusja

Sugerowałbym również w dyskusji wyników zwrócić uwagi na uproszczony skład gatunkowy, który pojawia się pod wpływem jednostronnego nawożenia azotem, a w konsekwencji na ubogi skład florystyczny paszy dla zwierząt.

W dyskusji Autorka pisze, że podłoże zwału pogórniczego było bardzo ubogie w składniki pokarmowe....(str. 74), co znajduje potwierdzenie w moich sugestiach odnośnie dalszych badań, że w doświadczeniach wazonowych istotne wydaje się scharakteryzowanie podłoża pod względem przynajmniej podstawowych parametrów fizykochemicznych.

Analiza zawartości przyswajalnych form makroskładników (P, K, Mg) oraz azotu i pH podłoża pozwoliła by na odpowiednie dawkowanie nawozu mineralnego, a także na poszukanie korelacji pomiędzy tymi składnikami w podłożu i biomasie oraz jej parametrami fizjologicznymi oznaczanymi w testowanych roślinach.

W dyskusji słuszne jest stwierdzenie, że z pomiaru fluorescencji chlorofilu stosunek Fv/Fm wykorzystywany jest do oceny wpływu stopnia stresu środowiskowego na rośliny (Str. 80) – w tym aspekcie zabrakło mi na przykład oznaczenia zawartości metali ciężkich w podłożach i roślinie, ponieważ ten parametr byłby doskonałym narzędziem do oceny poziomu stresu roślin, zasiedlających karbońską skałę płoną.

W dyskusji brakuje porównania wskaźników fizjologicznych pomiędzy gatunkami, a wprowadzenie tego elementu pozwoliłoby na pogłębianie wiedzy z zakresu odmiennych reakcji roślin na warunki skały płonnej.

Wnioski

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

Proszę Autorkę dysertacji, podczas posiedzenia naukowego, o konkretne wytypowanie testowanego gatunku do zasiedlania karbońskiej skały płonnej – gatunku polecanego dla praktyki w fitostabilizacji zwałów pogórnicznych. Jaki aspekt praktyczny widzi Pani w swoich zastosowanych metodach badawczych ?

Badania na przyszłość

W przyszłości, Doktorantka 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 składu chemicznego – pierwiastkowego pod wpływem zaaplikowanych dawek nawozów mineralnych (wieloskładnikowych) oraz ocena tych składników w kontekście mineralnego odżywiania.
- ✓ Oznaczanie zawartości metali ciężkich w biomasie roślin oraz ocena w kontekście stresu wywołanego tymi pierwiastkami.
- ✓ Analiza właściwości fizykochemicznych podłoża (karbońskiej skały płonnej) w kontekście wpływu na kondycję roślin: zasolenie, pojemność wodną sorpcyjną, pH, zawartość C-org,

N -ogółem, przyswajalne makroskładniki (P, K, Mg), oraz zawartość metali ciężkich. Tym bardziej, że Autorka zwraca uwagę na zwiększoną tolerancję roślin na stres wywołany metalami ciężkimi (str. 17).

- ✓ Oznaczanie biodostępnych form metali ciężkich w podłożach byłoby bardzo cenne, ponieważ dałoby kolejną informację o stresie dla roślin. Na przykład pod wpływem zaaplikowanych inokulatów oraz nawozów mineralnych warunki podłoża mogą ulec zmianie, np. pH, mający zasadniczy wpływ na biodostępność i pobieranie metali ciężkich z podłoża przez rośliny. Tym bardziej, że w literaturze naukowej jest dużo informacji o pH ryzosfery, przez co metale mogą przypierać formy niedostępne lub w bardziej dostępne formy.

Uwagi natury nomenklaturowej

Proponuję zamiast doniczki nazywać wazon, będzie to odpowiadało metodyce doświadczeń wazonowych (Experiment pot).

W praktyce rekultywacyjnej polecał używanie „wzrastająca dawka nawozu”, a nie ilość nawozu. W rekultywacji, a przede wszystkim w agronomii dawkuje się nawozy pod określone rośliny, zgodnie z ich zapotrzebowaniem na składniki pokarmowe.

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 Pauliny Zieleźnik-Rusinowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wykazuje, że Autorka ma wystarczający zasób wiedzy teoretycznej i specjalistycznej z zakresu uprawianej dyscypliny naukowej oraz umiejętność samodzielnego planowania i prowadzenia badań naukowych.

6. Wniosek końcowy

Stwierdzam, iż pomimo wysuniętych w recenzji uwag krytycznych i komentarzy, przedłożona do recenzji rozprawa **spełnia warunki określone w art. 14 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 2 ustawy z dnia 3 lipca 2018 roku. Zwracam się do Wysokiej Rady Instytutu Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Pani mgr Pauliny Zieleźnik-Rusinowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Jacek Antonkiewicz



