

Szczecin, 28.03.2014 r.

dr hab. inż. Arkadiusz Telesiński
Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii
Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Anety Puchały
pt.

**„Właściwości biochemiczne gleb parków miejskich na terenach
podlegających zróżnicowanemu wpływowi antropogenicznemu”**

1. Wprowadzenie

Niniejsza opinia została napisana w odpowiedzi na pismo z dnia 20 marca 2014 roku wraz z prośbą Pana prof. dr. hab. Krzysztofa Kowalczyka, Dziekana Wydziału Agrobiotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, o ocenę rozprawy doktorskiej mgr Anety Puchały, wykonanej pod promotorstwem Pani prof. dr. hab. Elżbiety Jolanty Bielińskiej. Promotorem pomocniczym pracy była Pani dr inż. Barbara Futa.

2. Ocena problematyki badawczej pracy

Rozprawa doktorska mgr Anety Puchały pt. „Właściwości biochemiczne gleb parków miejskich na terenach podlegających zróżnicowanemu wpływowi antropogenicznemu” podejmuje bardzo ważną i aktualną problematykę badawczą, dotyczącą oceny, w oparciu o parametry biochemiczne, a także fizykochemiczne, jakości gleb w parkach miejskich sześciu miast Polski znajdujących się pod różnym wpływem antropopresji.

W środowisku naturalnym gleby wytworzyły się w wyniku działania czynników glebotwórczych, takich jak skała macierzysta, klimat, woda, flora i fauna oraz działalność człowieka. Jednak ciągły wzrost stopnia urbanizacji doprowadził do zmian właściwości gleb

w obrębie aglomeracji miejskich. Pod wpływem oddziaływań urbanizacyjnych środowisko miejskie, w tym również gleby, ulega negatywnym przekształceniom, odznaczając się parametrami znacznie odbiegającymi od wskaźników charakteryzujących warunki naturalne i skutkując pogorszeniem jakości życia ludzi w miastach. Aglomeracje miejskie generują szczególne przekształcenia, które mogą także przekraczać zdolności utrzymania wewnętrznej homeostazy ekosystemu miejskiego.

Gleby antropogeniczne, w tym gleby miejskie, są jedną z najmniej poznanych grup gleb w Polsce, dość rzadko poddawaną szczegółowym badaniom. Powstawanie gleb antropogenicznych warunkuje działalność człowieka – zarówno pozytywna, jak i negatywna, przy czym dominującym czynnikiem, wpływającym na powstawanie gleb tej grupy, jest wprowadzanie substancji chemicznych, powodujących nieodwracalne w skutkach przeobrażenia. Konieczny zatem staje się monitoring nie tylko samego zagospodarowania, ale także stopnia zanieczyszczenia oraz wpływu substancji zanieczyszczających na właściwości fizyczne, chemiczne oraz biologiczne gleb miejskich. Warto również podkreślić, iż zagadnienia dotyczące przejmowania i degradacji gleb w procesie urbanizacji są w Ramowej Europejskiej Strategii Ochrony Gleb wymienione jako jedne z podstawowych zagrożeń funkcjonowania krajobrazów miejskich.

Ocena wpływu czynników antropogenicznych na gleby, zarówno miejskie, jak i użytkowane rolniczo, w oparciu o parametry fizyczne i chemiczne nie daje pełnego obrazu zachodzących w nich zmian. Natomiast analiza biologiczna, a zwłaszcza biochemiczna środowiska glebowego jest jednym z najbardziej czułych wskaźników oddziaływania antropopresji. Jak podaje Autorka, negatywny wpływ urbanizacji na właściwości fizyczne i chemiczne gleb poznano dość dobrze. W znacznie mniejszym stopniu badano zmiany stanu biologicznego gleb na terenach zurbanizowanych.

Problematyka badawcza pracy obejmuje zatem zmiany, w zależności od stopnia antropopresji właściwości fizykochemicznych gleb miejskich oraz aktywności w niej wybranych enzymów, biorących udział w biogeochemicznym obiegu węgla (dehydrogenazy), azotu (proteazy i ureazy) oraz fosforu (fosfataza kwaśna oraz alkaliczna). Uwzględnia zatem czynniki i zjawiska kształtujące jakość środowiska, jak i stopień wpływów antropogenicznych oraz ich oddziaływanie na podstawowe wskaźniki jakości gleby. Tym samym jednoznacznie mieści się w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie ochrona i kształtowanie środowiska.

3. Formalna analiza rozprawy

Maszynopis dysertacji, obejmujący łącznie spis treści, tekst pracy, 21 tabel, 19 rysunków, dwie „wielokrotne” fotografie, zestawienie cytowanej literatury oraz streszczenie w języku angielskim liczy 109 stron. Piśmiennictwo zawiera 218 pozycji, w tym 111 pozycji obcojęzycznych (103 w języku angielskim, 7 w języku niemieckim i 1 w języku rosyjskim), co stanowi prawie 51% cytowanej literatury. Ponadto w zestawie tym brakuje 3 pozycji literaturowych (Hofmann 1962 – str. 29, Kiss i in. 1993 – str. 29, Nannipieri 1996 – str. 35), jak również niektórych aktów prawnych, cytowanych w tekście pracy (m.in. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi – str. 22; czy Dyrektywa 2006/11/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 lutego 2006 r. w sprawie zanieczyszczenia spowodowanego przez niektóre substancje niebezpieczne odprowadzane do środowiska wodnego Wspólnoty – str. 58). Zakres wykorzystanej literatury nie powinien budzić zastrzeżeń, jeśli weźmie się pod uwagę fakt, iż Autorka prowadząc zaplanowane analizy laboratoryjne oraz przygotowując ocenianą rozprawę musiała zapoznać się z literaturą dotyczącą wielu informacji m.in. z zakresu gleboznawstwa, mikrobiologii, biochemii, ekotoksykologii i analityki chemicznej. Tytuł pracy jest dobrze sprecyzowany i adekwatny do treści maszynopisu. Układ rozprawy jest logiczny, ograniczony do zagadnień merytorycznych, niezbędnych do przeprowadzenia wyводу zgodnego z koncepcją Autorki.

Zasadnicza część pracy składa się z ośmiu rozdziałów: 1. „Wstęp”, 2. „Przegląd literatury”, 3. „Cel i zakres pracy”, 4. „Materiał i metody”, 5. „Wyniki badań i dyskusja”, 6. „Zależności między badanymi parametrami gleb”, 7. „Wnioski”, 8. „Piśmiennictwo”.

Układ pracy jest poprawny pod względem formalno-metodycznym. Osobiście rekomendowałbym jednak włączenie rozdziału 6 („Zależności między badanymi parametrami gleb”) do „Wyników badań i dyskusji” (rozdział 5), jako podrozdział 5.3. Wynika to z faktu, iż ocena korelacji między oznaczanymi parametrami gleb jest dalszą częścią opisu otrzymanych wyników badań. Ponadto Autorka w rozdziale tym przeprowadza również dyskusję otrzymanych zależności z danymi dostępnymi w literaturze tematu.

Pomiędzy poszczególnymi rozdziałami zostały zachowane prawidłowe proporcje. Rozdziały ściśle się ze sobą zająbiają i stanowią logiczną całość. Świadczy to o przemyślanej koncepcji pracy, która stanowi ciekawe kompendium na temat gleb miejskich i zachodzących w nich zmian pod wpływem antropopresji. Ponadto, przy takiej ilości otrzymanych rezultatów, za trafne należy uznać przeprowadzenie szczegółowej analizy wyników i konfrontacji ich

z danymi literaturowymi, dwóch wyodrębnionych podrozdziałach i trzynastu podpodrozdziałach rozdziału 5. pt. „Wyniki badań i dyskusja”.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie zgodnie z zaplanowanym schematem badań. Przeprowadzona analiza statystyczna uzyskanych rezultatów podnosi przejrzystość i wiarygodność dysertacji.

Praca jest starannie przygotowana i napisana poprawnym językiem polskim. Na szczególną uwagę zasługuje staranne opracowanie licznych wyników w formie graficznej i tabelarycznej. W mojej opinii należałoby jednak uzupełnić większość podpisów tabel i rysunków o sformułowanie np. „na terenie badanych parków” lub „w glebie z terenu badanych parków”. Autorka wielokrotnie w podpisie podaje jedynie nazwę oznaczanego parametru i jego jednostkę.

4. Merytoryczna analiza pracy

Niniejsza praca ma pięć wyraźnie sprecyzowanych aspektów badawczych:

- zbadanie aktywności biochemicznej gleb 12 parków usytuowanych w strefie śródmiejskiej, na terenach będących pod presją skażeń antropogenicznych oraz na peryferiach miast, na obszarach nie poddanych bezpośrednio oddziaływaniu czynnika antropogenicznego;
- ocena właściwości sorpcyjnych badanych gleb miejskich i relacji wysoka sorpcja – bezpieczeństwo ekologiczne;
- analiza zanieczyszczenia gleb w wytypowanych parkach metalami ciężkimi i wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi;
- uchwycenie ewentualnych związków między badanymi parametrami aktywności biochemicznej i właściwościami fizykochemicznymi i chemicznymi gleb;
- określenie możliwości zastosowania testów biochemicznych do oceny jakości gleb miejskich.

Znaczącą rolę w zakresie rozwinięcia celów pracy odegrały przyjęte następujące hipotezy badawcze:

- stopień degradacji biologicznej i chemicznej gleb na terenach zurbanizowanych zależy od intensywności presji antropogenicznej;
- w przypadku terenów zurbanizowanych nie zawsze wysoka sorpcja równoznaczna jest z bezpieczeństwem ekologicznym;

- zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi i WWA modyfikuje aktywność biochemiczną gleb;
- istnieją zdefiniowane zależności pomiędzy biochemicznymi i chemicznymi wskaźnikami zanieczyszczenia gleb miejskich;
- testy biochemiczne umożliwiają kwantyfikację przemian antropogenicznych i mogą być w praktyce stosowane do szybkiej oceny jakości gleb miejskich;
- stopień zanieczyszczenia gleb miejskich metalami ciężkimi i WWA uzależniony jest ściśle od strefy terenów zurbanizowanych; uzyskane wyniki mogą być stosowane przy delimitacji stref podmiejskich (delimitacja granic strefy podmiejskiej napotyka na znaczne trudności głównie ze względu na wielopasmowy i wielokierunkowy rozwój miast).

Sformułowane hipotezy badawcze są poprawne, a przyjęte narzędzia do ich zweryfikowania nie budzą zastrzeżeń. Warto podkreślić, iż tak postawione cele pracy narzuciły bardzo szeroki zakres badań, wymagających przygotowania z różnych dziedzin naukowych, m.in. gleboznawstwa, mikrobiologii, biochemii, ekotoksykologii i chemii analitycznej. Już samo zapoznanie się z literaturą dotyczącą tematyki badań było bardzo poważnym zadaniem. Autorka wywiązała się z tego w bardzo dobry sposób, a przygotowany przez Nią przegląd piśmiennictwa w bardzo jasny sposób zaznajamia czytelnika zarówno z zagadnieniami dotyczącymi charakterystyki gleb antropogenicznych, ich systematyki, procesów biologicznych zachodzących w glebie, a także wskaźników biochemicznych i mikrobiologicznych jakości gleb. Opisując klasyfikację gleb miejskich Autorka powołuje się na różne propozycje ich usystematyzowania. Większość z nich jest jednak powiązana z nieaktualną już systematyką gleb według PTG z 1989 roku. Aktualnie obowiązuje systematyka gleb według PTG z roku 2011, która wyróżnia rząd 11 (a nie znajdujący się w starej systematyce dział VII, jak podaje Autorka) gleb antropogenicznych, oraz występujące w nim rzędy: 11.1 – gleby kulturoziemne, 11.2 – gleby indutroziemne, 11.3 – gleby urbiziemne, 11.4 – gleby słone i zasolone. Niestety w całej pracy zabrakło przytoczenia informacji na temat obowiązującej aktualnie systematyki gleb antropogenicznych. Pewne zastrzeżenia również budzi opis budowy i mechanizmu działania enzymów (str. 31-32). Autorka zamiennie stosuje określenie grupa prostetyczna i koenzym, co jest błędem, gdyż grupa prostetyczna jest częścią niebiałkową związaną z apoenzymem wiązaniami kowalencyjnymi, podczas gdy połączenie koenzymu i apoenzymu jest nietrwałe. Radziłbym zatem w celu ogólnego określenia części niebiałkowej enzymu używania stwierdzenia kofaktor. Autorka błędnie podała również informację iż enzymy z klasy liaz i ligaz nie wymagają do aktywności katalitycznej

koenzymów. Znana jest liczna grupa koenzymów współdziałających z liazami i ligazami, wśród których należy wymienić m.in. fosforan pirydoksalu, difosforan tiaminy, biotynę, czy cyjanokobalaminę.

Praca pod względem metodycznym została wykonana prawidłowo. Zastosowana w pracy metodyka badań potwierdzona jest w światowej i krajowej literaturze, i świadczy o właściwym opanowaniu przez Doktorantkę warsztatu badawczego.

Badaniami porównawczymi objęto gleby 12 parków: sześciu zlokalizowanych w strefie śródmiejskiej na terenach będących pod presją skażeń antropogenicznych oraz sześciu na przedmieściach w następujących miastach: Bytom; Kraków, Lublin, Miasteczko Śląskie, Zabrze, Zamość. Wszystkie wytypowane do badań parki charakteryzowały się glebami typologicznie przeobrażonymi.

Prace badawcze prowadzono w latach 2010-2012. Próbkę glebową do analiz laboratoryjnych z wybranych powierzchni pobierano z poziomu próchnicznego, w okresie gdy gleba znajdowała się w stanie dynamicznej równowagi, utrzymującej bieg procesów biochemicznych w granicach umiarkowanego nasilenia (połowa października). W badanych próbkach glebowych oznaczono: aktywność dehydrogenaz, fosfataz (kwaśnej i alkalicznej), proteaz i ureazy, a także wilgotność aktualną, pH w 1 mol KCl·dm⁻³, kwasowość hydrolityczną, sumę kationów, pojemność sorpcyjną, udział kationów o charakterze zasadowym w kompleksie sorpcyjnym, zawartość węgla organicznego, zawartość azotu ogółem, azotu azotanowego i azotu amonowego, zawartość przyswajalnych form fosforu, potasu oraz magnezu. Ponadto także: całkowitą zawartość metali ciężkich (Zn, Pb, Cd, Cu) oraz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.

Szczególnie korzystnie na tle całej rozprawy wypada rozdział „Wyniki badań i dyskusja”, jak również „Zależności między badanymi parametrami gleb”. Rozdziały te nie budzą większych zastrzeżeń pod względem poprawności językowej, sposobu cytowania literatury czy stosowanych jednostek miar. Odznaczają się logicznym i przejrzystym układem podrozdziałów, zwięzłością formułowania myśli, trafnie dobranymi i zinterpretowanymi pozycjami literaturowymi oraz w większości poprawną ostrożnością wnioskowania. Niekwestionowaną zasługą Autorki jest wykazanie, że badania biochemiczne z zakresu oceny jakości gleb w obrębie parków mają istotne znaczenie z punktu widzenia ekologii miasta, a także stwierdzenie, iż ciągły monitoring gleb miejskich, szczególnie w obrębie parków, pozwoli na osiągnięcie pożądaných wyników ekologicznych oraz aktualizację praktyki zarządzania na terenach zurbanizowanych. Osiągnięcia rozprawy mają duże walory użytkowe i mogą być podstawą do prognozowania przemian gleb parków miejskich w długim okresie, co

ma istotne znaczenie w aspekcie utrzymania stabilności urządzonych terenów zieleni w warunkach Polski. Autorka dokładnie porównuje swoje wyniki z danymi literaturowymi, próbuje wyjaśniać zależności i tendencje uzyskane w badaniach własnych, jednocześnie wyraźnie prezentuje swój punkt widzenia, co świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Ostatecznym efektem rozprawy jest rozdział „Wnioski”. Zawiera on podsumowanie wyników w formie dziewięciu syntetycznych wniosków. Są one poprawnie sformułowane, nie stanowią powtórzenia opisu wyników badań i oprócz walorów czysto poznawczych, mają również duże znaczenie praktyczne. Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka wykazała m.in., że intensywność antropopresji jest istotnym czynnikiem wpływającym na właściwości biochemiczne i fizykochemiczne gleb parkowych, a nasilające się niekorzystne zmiany ich stanu ekochemicznego świadczą o zwiększających się wpływach antropogenicznych na terenach zurbanizowanych w Polsce.

Powyższa charakterystyka pracy upoważnia mnie do wysokiej oceny zarówno wybranej tematyki, jak i sposobu zrealizowania postawionego zadania. Na uwagę zasługuje również kompleksowe ujęcie badań i wnikliwe skonfrontowanie otrzymanych wyników z danymi literaturowymi.

Przedstawiona rozprawa stanowi wyróżniający przykład dysertacji i oprócz wymienionych wcześniej uwag w większości pozbawiona jest poważniejszych uchybień. Niemniej studiując tę pracę nasunęły mi się następujące uwagi krytyczne, które z obowiązku recenzenta chciałbym przekazać Autorce:

- Uwaga 1. W „Przeglądzie literatury” na str. 31-32 w opisie budowy i mechanizmu działania enzymów występują błędy, o których wspomniałem we wcześniejszym fragmencie niniejszej recenzji. Ponadto na stronach tych Autorka niepotrzebnie dwukrotnie powtarza te same informacje dotyczące podstaw enzymologii, powołując się na dwa podręczniki akademickie: „Podstawy biochemii” J. Kączkowskiego oraz „Biochemię Harpera” R.K. Murraya i in.
- Uwaga 2. W tabeli 5. błędnie podano ogólny zapis reakcji katalizowanych przez dehydrogenazy. Po stronie substratów brakuje symbolu akceptora atomów wodoru (A). Prawidłowy zapis reakcji powinien wyglądać następująco: $XH_2 + A \rightarrow X + AH_2$.
- Uwaga 3. W mojej ocenie należałoby podać głębokość z jakiej pobierano próbki glebowe do badań, gdyż gleba w każdym parku mogła charakteryzować się różną miąższością poziomu próchnicznego.

- Uwaga 4. W rozdziale „Materiał i metody” przy opisie metodyki oznaczania zawartości sumy 16 WWA należałoby podać powołanie na publikację metodyczną, bądź uzupełnić opis o informacje m.in. na temat złoza wypełniającego kolumnienki SPE, rodzaju eluentu, szybkości przepływu fazy ruchomej, temperatury kolumny oraz wielkości nastrzykiwanej próbki. Brakuje również informacji dotyczących producenta aparatury do oznaczeń chromatograficznych, a także spektrofotometrycznych.
- Uwaga 5. W rozdziale „Materiał i metody” należałoby podać czterocyfrowe numery klasyfikacji oznaczanych enzymów (EC).
- Uwaga 6. W rozdziale „Materiał i metody” błędnie podano skrót i nazwę produktu powstającego w wyniku reakcji katalizowanej przez dehydrogenazy: zamiast TFP (trifeniloformozan) powinno być TPF (1,3,5-trifeniloformazan). Jeżeli Autorka podaje pełną nazwę produktu tej reakcji, należałoby również wyjaśnić skrót substratu: TTC – chlorek 2,3,5-trifenylotetrazolu.
- Uwaga 7. Na str. 75 Autorka tłumacząc wyższą aktywność fosfatazy kwaśnej niż zasadowej w badanych glebach, podaje iż fosfataza kwaśna charakteryzuje się małą specyficznością substratową. Również fosfataza zasadowa posiada małą specyficzność substratową, a różnice w aktywności tych enzymów moim zdaniem powiązane są z wartościami pH badanych gleb.
- Uwaga 8. Analizując zależności pomiędzy oznaczanymi parametrami w mojej ocenie należałoby również obliczyć współczynniki korelacji pomiędzy zawartością frakcji iłu $d \leq 0,002$ mm a pozostałymi oznaczanymi parametrami. Autorka w „Przeglądzie literatury” wszakże podaje, iż minerały ilaste są głównym składnikiem glebowym stabilizującym enzymy, jak również mają wpływ na właściwości sorpcyjne gleb, a co za tym idzie m.in. na zawartość ksenobiotyków w roztworze glebowym. Zawartość frakcji iłu $d \leq 0,002$ mm może zatem istotnie wpływać na różnice w aktywności oznaczanych enzymów w poszczególnych próbkach gleby.
- Uwaga 9. Niejasna jest dla mnie numeracja tabel: 20a, 20b, 21a i 21b. Czy nie można było zastosować ciągłości numeracji? Cechą wspólną tabel 20a i 20b oraz 21a i 21b jest jedynie lokalizacja parków.
- Uwaga 10. W spisie literatury („Piśmiennictwo”) należałoby jednolicie stosować albo pełne nazwy czasopism, albo ich skróty. Ponadto skróty powinny być zgodne z tymi, które umieszczone są na stronie internetowej: ISI Web of Science Journal Title Abbreviations.

Inne niewielkie usterki reakcyjne dotyczą przede wszystkim cytowania literatury (np. na str. 33 podane jest Pascuali i in. (2000), a w spisie literatury Pascual i in (2000) – poz. 162; na str. 84 występuje Ashoc i in. (1995), a w spisie literatury Ashok i in. (1995) – poz. 4), a także powoływania się na tabele i rysunki (np. na str. 54 przy opisie wyników zawartości azotu azotanowego zamiast rys. 9-10, widnieje powołanie na tab. 9-10; na str. 82 występuje powołanie na tabelę 38 b, której nie ma w pracy). Sądzę, że te uwagi mogą być przydatne podczas przygotowania pracy do druku.

5. Wniosek końcowy

Przedstawione uwagi w zdecydowanej większości mają charakter uściślający i nie obniżają merytorycznej wartości dysertacji. Nie zmieniają one także bardzo pozytywnego wrażenia, jakie pozostaje po wnikliwym przestudiowaniu rozprawy. Wynikowa część pracy stanowi cenny materiał, który ma duże znaczenie naukowe i użytkowe. Praca napisana jest zwięzłym i profesjonalnym językiem. Posiada dobrze zarysowany cel, zakres i metodykę badań. Wyniki są bardzo starannie opracowane i czytelnie zaprezentowane, a ich dyskusja osadzona w realiach wcześniejszej i najnowszej literatury przedmiotu. Można stwierdzić, że Autorka dysertacji dokonała rozwiązania oryginalnego problemu naukowego w szeroko pojętym zakresie dyscypliny ochrona i kształtowanie środowiska.

Stwierdzam, iż przedstawiona do oceny rozprawa naukowa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim, które 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.). Wniosuję zatem do Rady Wydziału Agrobiotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr Anety Puchały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na szeroki i bardzo aktualny zakres badań oraz wyróżniające się opracowanie wyników, wraz z ich dużą wartością poznawczą i użytkową wnoszę o wyróżnienie pracy.



dr hab. inż. Arkadiusz Telesiński