



**Państwowa Akademia
Nauk Stosowanych
w Przemysłu**

Przemyśl, dnia 15 kwietnia 2024 r.

R E C E N Z J A

**rozprawy doktorskiej pt.: „Parametry aktywności bakterii i grzybów glebowych oraz fitotoksyczność gleby, jako wskaźniki oceny skutków oddziaływania na środowisko odpadów pochodzących z rolnictwa i przemysłu chemicznego”
wykonanej przez mgr inż. Edytę Kwiatkowską
z Wydziału Agrobioinżynierii, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
pod kierunkiem dr hab. Jolanty Joniec, profesora uczelni.**

Nadesłana mi do recenzji praca doktorska pod w/w tytułem to zbiór czterech opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, które w całości zostały skserowane i załączone w drugiej części pracy doktorskiej. Pierwsza część pracy przedstawiona na 58 stronach maszynopisu zawiera osiem rozdziałów, które podzielone są z kolei na podrozdziały, to wstęp, metodyka i wyniki z dyskusją oraz spis literatury obejmujący aż 160 najnowszych pozycji z ostatnich kilkunastu lat głównie polskich, i anglojęzycznych, które wykorzystano we wstępie pracy, celem wprowadzenia czytelnika w omawiany problem. W części tej opisano znaczenie monitorowania stanu środowiska glebowego, poddanego działaniu różnych odpadów, pochodzących z działalności zarówno rolniczej, jak i przemysłowej. Należy zaznaczyć, że załączone cztery prace mają łącznie 440 pkt. MEiN oraz posiadają aż 8,3 Impact Factor.

Rozprawa doktorska mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej pt. „Parametry aktywności bakterii i grzybów glebowych oraz fitotoksyczność gleby, jako wskaźniki oceny skutków oddziaływania na środowisko odpadów pochodzących z rolnictwa i przemysłu chemicznego” **spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.)**. Stwierdzam, że pod względem formal-

nym praca doktorska została napisana prawidłowo i zgodnie z przepisami obowiązującymi od 1 stycznia 2021 roku, może być przedmiotem dalszego opracowania w formie niniejszej recenzji.

Nasze bogactwa naturalne i zasoby środowiska mocno nadwyrężone w przeszłości, bez wątplenia nie wytrzymają dalszych obciążeń. Eksperti już dziś ostrzegają, szczególnie w krajach rozwijających się, a także i w Polsce, że wzrastająca liczba ludności pociągnie za sobą wzrost zapotrzebowania na żywność, którą produkować muszą rolnicy, a do tego potrzebują dobrej jakości gleb, o dużej aktywności biologicznej i zawierającej liczne biogeny. Wydaje się, że nowoczesne rolnictwo wykorzystujące najnowsze zdobycze wiedzy z zakresu ekologii, biologii molekularnej, genetyki, inżynierii genetycznej i mikrobiologii mogą sprostać stojącym przed ludzkością zadaniom i przyczynić się do wzrostu aktywności i żyzności gleb. Dlatego każde działania zmierzające do powstrzymania niekorzystnych trendów związanych z degradacją gleb należy uznać za wskazane i zasługujące na specjalną uwagę. Nic więc dziwnego, że temat pracy doktorskiej p. mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej związany jest z biologią i ekologią bakterii i grzybów glebowych wykorzystanych jako wskaźniki od oceny skutków oddziaływania na środowisko glebowe odpadów pochodzących z rolnictwa i przemysłu chemicznego. I właśnie cele zawarte w ocenianej rozprawie doktorskiej są próbą wykorzystania odpadów rolniczych i przemysłowych do wzbogacenia gleb uprawnych w materię organiczną, będącym jednym z ważnych czynników warunkujących żyzność gleb.

Muszę przyznać, że z wielkim zainteresowaniem przeczytałem bardzo dobrze opracowany wstęp, w którym w oparciu o obficie cytowane dane literaturowe Doktorantka przedstawiła informacje na temat przyczyn degradacji gleby, zwracając szczególną uwagę na jej aspekty fizyczne, chemiczne i biologiczne. Z kolei opisuje skutki powodowane przez poszczególne czynniki szczegółowo analizując ich wpływ na różne parametry związane z żyznością, aktywnością, urodzajnością i plonowaniem zdegradowanych gleb. Omówiła rolę materii organicznej oraz nawozów mineralnych i organicznych w tym odpadów pochodzenia rolniczego na procesy regeneracyjne gleby. Ważną część wstępu, ściśle związana z tematem i celami pracy doktorskiej jest opis odpadu rolniczego jakim jest podłoże po uprawie pieczarek, które Doktorantka stosowała w swoich badaniach, a których wyniki wykorzystwała w prezentowanych pracach i rozprawie doktorskiej. Na uwagę zasługuje też opis roli i znaczenia drobnoustrojów w środowisku glebowym, w którym Doktorantka szczegółowo przedstawiła ich korzystny wpływ na przemiany biogeochemiczne biogenów i mate-

rii organicznej oraz znaczenia w podnoszeniu produktywności gleb uprawnych. Z uwagi na fakt, że wskaźniki mikrobiologiczne, biochemiczne oraz enzymatyczne gleby, a także fitotoksyczność mają potencjał szybkiego reagowania na zmiany środowiskowe, mogą służyć do oceny skutków oddziaływania odpadów pochodzenia rolniczego i przemysłowego i informować o skali zachodzących np. niekorzystnych zmian w środowisku glebowym.

Cele pracy doktorskiej mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej, przedstawione na 21-22 stronie pracy doktorskiej, zrozumiałem jako ważne cele etapowe o charakterze poznawczym, na drodze realizacji trzech celów badawczych:

- zbadanie i porównanie wpływu odpadu popieczarkowego oraz obornika, na wskaźniki jakości gleby, jakimi są: liczebność i różnorodność mikroorganizmów glebowych, aktywność biochemiczna oraz enzymatyczna związana z mikrobiologicznymi przemianami N, C, P, S, a także na fitotoksyczność gleby;
- ocenę liczebności mikroorganizmów glebowych i ich aktywności biochemicznej, a także enzymatycznej oraz analizę fitotoksyczności gleby z terenów poprzemysłowych, poddanej oddziaływaniu odpadu z przemysłu chemicznego;
- zbadanie wpływu mikroorganizmów glebowych na powstawanie gazów cieplarnianych w glebie z dodatkiem różnych odpadów.

Nie mam uwag krytycznych do części metodycznej pracy. Realizacja celów pracy została bardzo dobrze zaplanowana i przeprowadzona. Na uwagę zasługują badania terenowe (Czesławice, województwo lubelskie i tereny poprzemysłowe w województwie mazowieckim) gdzie założono eksperymenty polowe i skąd pobierano próbki do badań analitycznych. W badaniach mikrobiologicznych oceniano takie parametry jak: ogólną liczebność bakterii oligotroficznych, kopiotroficznych oraz grzybów strzępkowych, liczebność bakterii i grzybów celulolitycznych oraz proteolitycznych, względną zawartość DNA, stężenie dsDNA, nasilenie procesów amonifikacji i nityfikacji, aktywność oddechową, aktywność enzymów glebowych (proteazy, ureazy, dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej i zasadowej, arylosulfatazy, β -glukozydazy, aktywność hydrolityczną dioctanu fluoresceiny (FDA)), a także wskaźniki fitotoksyczności gleby. Badane parametry analizowano na tle właściwości fizycznych, chemicznych i fizykochemicznych, oraz warunków środowiskowych, takich jak opady atmosferyczne i temperatura. Wszystkie analizy przeprowadzono w trzech równoległych powtórzeniach i przedstawiono, jako średnią arytmetyczną z tych powtórzeń. Wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu oprogramowania STATISTICA wersja 13.0 (TIBCO Software Inc., Palo Alto,

CA, USA) z modelami ANOVA i wielokrotnymi t *Tukeya*-testy na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Wyniki przedstawiono na wykresach słupkowych z zaznaczonym odchyleniem standardowym. Zależności między analizowanymi parametrami mikrobiologicznymi, biochemicznymi, enzymatycznymi, fitotoksycznością i parametrami fizykochemicznymi, chemicznymi oraz warunkami środowiskowymi analizowano za pomocą analizy składowych głównych (metoda PCA) oraz korelacji Personna na trzech poziomach istotności: $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$.

1. Ocena pracy pod względem metodycznym

Przystępując do oceny recenzowanej pracy, jako rozprawy doktorskiej pragnę zaznaczyć, że zebrane wyniki dotyczą ogromnego zakresu badań wykonanych w warunkach polowych i laboratoryjnych. Powyższe badania stanowią cenne osiągnięcie naukowe z zakresu ekologii i ekotoksykologii mikroorganizmów glebowych i fitotoksyczności, wyjaśniające wiele problemów związanych z przemianami materii organicznej zawartej w odpadach i ich wpływu na badane wskaźniki mikrobiologiczne, enzymatyczne, fitotoksyczne i biochemiczne gleby. Zastosowane metody badawcze oparte są na powszechnie stosowanych nowoczesnych metodach mikrobiologicznych i genetycznych, są właściwie dobrane oraz zastosowane, pozwalające na udowodnienie postawionego celu. Praca wykonana jest poprawnie pod względem metodycznym. Powyższe badania Doktorantka przeprowadziła wyjątkowo starannie, w licznych powtórzeniach, co zaowocowało wieloma bardzo interesującymi wynikami, które wzbogacą nasz wiedzę o ekologii i ekotoksykologii odpadów oraz właściwościach fizjologicznych i genetycznych badanych bakterii i grzybów glebowych.

2. Ocena pracy pod względem merytorycznym

Oceniana praca doktorska zawiera bardzo dobrze opracowaną część wstępną-przeładową, w której autorka opisuje dotychczasowy dorobek naukowy w tej dziedzinie, dając wyraz swej doskonałej orientacji w najnowszych osiągnięciach badawczych nad rolą i znaczeniem drobnoustrojów w kształtowaniu żyzności gleb ze szczególnym uwzględnieniem przemian odpadów o dużym zróżnicowaniu, pochodzeniu i zawartości składników pokarmowych.

Głównym celem wykonanej pracy doktorskiej były badania mikrobiologiczne, genetyczne, fitotoksyczne i ekologiczne zmierzające do oceny skutków oddziaływania odpadów pochodzących z rolnictwa i przemysłu chemicznego na parametry aktywności bakterii i grzybów glebowych jako wskaźników żyzności gleb.

Zamierzony cel osiągnięto poprzez szczegółową i bardzo dokładną analizę warunków występowania i aktywności bakterii i grzybów w wybranych środowiskach glebowych poddanych różnym zabiegom nawozowym z zastosowaniem podłoża popieczarkowego, obornika i odpadu z przemysłu chemicznego (płynny odpad z produkcji klejów i celulozy).

W wyniku przeprowadzonych badań mikrobiologicznych biochemicznych genetycznych i fitotoksycznych Doktorantka uzyskała wyniki, które wiążą się z próbą wyjaśnienia wpływu czynników środowiskowych głównie nawożenia odpadami rolniczymi i poprzemysłowymi na występowanie i aktywność biochemiczną bakterii i grzybów w zdegradowanych glebach i próba ich rewitalizacji.

Przeprowadzone badania są bardzo ważne pod względem naukowym i nie budzą zastrzeżeń natury merytorycznej. Jako oryginalne i bardzo ciekawe wnoszą one nowe elementy poznawcze do ekologii bakterii i grzybów i ich występowanie w warunkach intensywnego nawożenia odpadami. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że czynniki środowiskowe jak: rodzaj odpadów, typ i rodzaj gleby oraz ich właściwości w tym odczyn mają istotny wpływ na występowanie i aktywność populacji drobnoustrojów glebowych.

W oparciu o uzyskane wyniki z przeprowadzonych badań autorka wyciągnęła wnioski, które sprecyzowane są bardzo rzeczowo i konkretnie. Do najważniejszych wniosków Doktorantki które znajdują się w czterech opublikowanych artykułach należy zaliczyć te, w których wykazała, że:

1. Zastosowanie podłoża popieczarkowego spowodowało na ogół pobudzenie większości badanych parametrów związanych z przemianami mikrobiologicznymi C i N w glebie, ale wraz z upływem czasu efekt ten ulegał osłabieniu. Jedynie aktywność oddechowa podlegała nasileniu utrzymującemu się, z różną intensywnością, przez cały okres badań.

2. Aktywność enzymów odpowiedzialnych za przemiany P i S, tj. fosfatazy kwaśnej i arylosulfatazy, podlegały hamowaniu pod wpływem podłoża popieczarkowego. Należy zaznaczyć, że negatywny wpływ odpadu z czasem osłabił, a nawet zanikł, ale utrzymywał się w przypadku arylosulfatazy również w III roku w obiektach z odpadem i nawożeniem mineralnym w niższej dawce.

3. Przeprowadzone badania wykazały, że korzystny wpływ nawożenia odpadem popieczarkowym na aktywność drobnoustrojów ma charakter krótkoterminowy i dotyczy pierwszych dwóch lat stosowania.

4. Wyniki badań nad wpływem zużytego podłoża popieczarkowego na fitotoksyczność potwierdziły brak negatywnego wpływu na indeks wzrostu. Natomiast biorąc pod uwagę przyrost korzenia, którego hamowanie odnotowano w I i II roku badań należy stwierdzić, że fitotoksyczność gleby uległa okresowemu pogorszeniu.

5. Najkorzystniejsze dla analizowanych parametrów mikrobiologicznych okazało się zastosowanie podłoża popieczarkowego łącznie z niższą dawką nawożenia mineralnego.

6. Przedstawione badania wskazują również, że do monitorowania zmian zachodzących w glebie nawiezionej odpadem popieczarkowym wskazane jest łączne stosowanie różnych metod badawczych, zarówno klasycznych, jak i nowoczesnych.

7. Odpad popieczarkowy w mniejszym stopniu niż obornik przyczynia się do wzrostu ilości produktów nityfikacji, które następnie mogą potencjalnie prowadzić do powstania gazu cieplarnianego, tj. N_2O i tym samym przyczyniać się do wzrostu efektu cieplarnianego.

8. Nawozowe zastosowanie odpadu popieczarkowego przyczyniło się do wzrostu ilości wydzielanego CO_2 , którego ilość wzrastała wraz z upływem czasu. Obserwacje te wskazują, że taki sposób gospodarowania tym odpadem może przyczyniać się do nasilenia efektu cieplarnianego poprzez zwiększenie emisji CO_2 z gleby.

9. Wpływ obornika na emisję gazów cieplarnianych nie był jednoznaczny. W przypadku CO_2 , nie spowodował on istotnego utrzymującego się wzrostu jego emisji. Natomiast stymulujący wpływ obornika na proces nityfikacji, którego produkty mogą być transformowane do N_2O , utrzymywał się znacznie dłużej niż odpadu popieczarkowego.

10. Zastosowane parametry aktywności drobnoustrojów oraz wskaźniki fitotoksyczności są czułymi markerami zmian spowodowanych oddziaływaniem ciekłego odpadu na glebę. Spośród analizowanych parametrów, najczulszymi w ocenie zmian środowiska glebowego, pod wpływem silnej alkalizacji, okazały się: ogólna liczebność bakterii i grzybów, aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz aktywność hydrolityczna fluoresceiny.

11. Wyniki dotyczące zanieczyszczenia gleby ciekłym odpadem wykazały, że jego negatywne oddziaływanie na populacje mikroorganizmów glebowych nie ogranicza się jedynie do górnej warstwy gleby (0 - 20 cm), ale jest również wyraźnie widoczne w jej dolnej warstwie, tj. 20 – 40 cm. Natomiast nie odnotowano negatywnych zmian w dalszej odległości od zbiornika.

12. Uzyskane wyniki wskazują, że z gleby zdegradowanej emitowana jest zwiększona ilość CO_2 , co może przyczyniać się do pogłębiania się efektu cieplarnianego. Aktywność oddechowa jest dobrą miarą czynników stresowych, ponieważ po pierwsze odzwierciedla wydajność drobnoustrojów, a po drugie w warunkach stresowych wytwarzane są większe ilości CO_2 .

Z obowiązku recenzenta powyższej rozprawy doktorskiej, zgłaszam następujące uwagi i proszę o wyjaśnienie:

- Co to jest typ, rodzaj i gatunek gleby? Lessy – co to jest?
- Humus – próchnica glebowa, materia organiczna gleby, na jakie frakcje dzielimy materię organiczną gleby? Ile jej jest w glebach Polski?

- Na czym polega amplifikacja i sekwencjonowanie genu 16S rRNA?
- Jakie grzyby oprócz pieczarki można uprawiać w sztucznych warunkach?
- Drobne usterki stylistyczne powstałe podczas wydruku rozprawy, poprawiłem w tekście pracy.

Moje uwagi - nie mają charakteru krytycznego i oczywiście nie wpływają w najmniejszym stopniu na wartość naukową pracy, a są jedynie pytaniami i uwagami w dyskusji.

3. Ocena pracy pod względem formalnym i strukturalnym

Praca napisana jest zwięźle i treściwie, stąd przedstawioną rozprawę p. mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej oceniam bardzo wysoko. Uzyskane w Jej pracy wyniki wzbogacają naszą wiedzę z zakresu mikrobiologii i ekologii drobnoustrojów glebowych poddanych oddziaływaniu odpadów. Gromadzenie tego rodzaju faktów jest szczególnie cenne w obecnym czasie, kiedy środowisko naturalne poddawane jest różnej presji i widać negatywną ingerencję człowieka. Zanieczyszczenia i skażenia różnymi związkami chemicznymi, preparatami i odpadami przez przemysł i rolnictwo czynią, że coraz trudniej będzie uzyskać informacje o układach i zależnościach biologicznych panujących w środowisku naturalnym, co jest konieczne dla określenia w nich stopnia wywoływanych zmian. Należy podkreślić, że praca wykonana jest poprawnie pod względem formalnym, stylistycznym i językowym oraz nie budzi zastrzeżeń natury naukowej. Na uwagę zasługuje poprawny styl i język polski. Na specjalną pochwałę zasługuje sama redakcja pracy, którą wykonano bardzo estetycznie i wyjątkowo starannie, co dodatkowo świadczy o wszechstronnych uzdolnieniach Doktorantki.

4. Wniosek końcowy

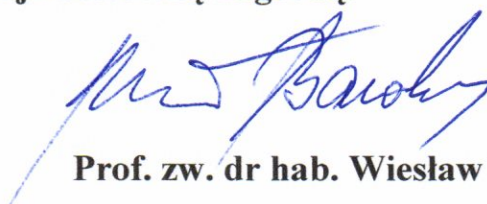
Biorąc pod uwagę powyższe dane dotyczące oceny formalnej, merytorycznej i merytorycznej pracy doktorskiej pani mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej pt.:

„Parametry aktywności bakterii i grzybów glebowych oraz fitotoksyczność gleby, jako wskaźniki oceny skutków oddziaływania na środowisko odpadów pochodzących z rolnictwa i przemysłu chemicznego”

stwierdzam, że powyższa rozprawa stanowi niewątpliwie oryginalne i cenne osiągnięcie naukowe doktorantki w zakresie mikrobiologii gleby. Wykazała w prezentowanej pracy umiejętność organizacji i samodzielnej realizacji badań. Duża znajomość literatury przedmiotu, opanowanie techniki badawczej z zakresu mikrobiologii i analityki molekularnej - wskazują na b. dobre przygotowanie doktorantki do pracy naukowej.

W świetle powyższych danych uważam, że rozprawa doktorska pod w/w tytułem wykonana przez p. mgr inż. Edytę Kwiatkowską pod kierunkiem **dr hab. Jolanty Joniec profesora uczelni w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim. W związku z powyższym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej do dalszych etapów postępowania przewodu doktorskiego.**

Z uwagi na znaczenie naukowe tematu, duży wkład pracy własnej w badaniach oraz sposób przedstawienia wyników, ich opracowanie i omówienie oraz opublikowaniu w postaci czterech artykułów w czasopismach zagranicznych posiadających w sumie 440 pkt. MEiN i IF=8,3 stawiam wniosek do **Wysokiej Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej p. mgr inż. Edyty Kwiatkowskiej - stosowną nagrodą.**



Prof. zw. dr hab. Wiesław BARABASZ