



prof. dr hab. Elżbieta Jolanta Bielińska

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania Środowiska

ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

tel. 081 5248159; e-mail: elzbieta.bielinska@up.lublin.pl



Lublin, 02. 07. 2016 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Mirosława Onyszki

pt.

„Wybrane ekotoksykologiczne i biochemiczne aspekty obecności w glebie pozostałości napropamidu”

1. Wprowadzenie

Niniejsza recenzja została opracowana w odpowiedzi na pismo Pana prof. dr hab. Aleksandra Brzóstowicza, Dziekana Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 16 maja 2016 roku. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Mirosława Onyszki została wykonana w Katedrze Fizjologii Roślin i Biochemii Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Promotorem dysertacji jest Pan dr hab. inż. Arkadiusz Telesiński. Rozprawa doktorska została wykonana w dyscyplinie naukowej *ochrona i kształtowanie środowiska*.

2. Ocena problematyki badawczej pracy

Problematyka, którą mgr inż. Mirosław Onyszko podjął w pracy jest bardzo ważna i interesująca, zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i aplikacyjnego. Napropamid (N,N-dietylo-2-(1-naftalenyloksy)-propanoamid) jest jednym z nielicznych herbicydów stosowanych w uprawach zielarskich. Obserwowany w ostatnich latach wzrost zainteresowania ziółolecznictwem pozostaje w związku z rozpowszechnianiem się tzw. chorób cywilizacyjnych. Pomiędzy firmami farmaceutycznymi trwa wyścig w badaniach

roślin zielarskich pod kątem wykorzystania ich leczniczych właściwości. Warto podkreślić, iż Polska jest jednym z większych producentów ziół w Europie. O użyteczności ziół w immunomodulacji metabolizmu ludzi decyduje skład chemiczny surowca zielarskiego, który determinowany jest m.in. agrotechniką ich uprawy. Zatem szeroko zakrojone badania ekotoksykologii napropamidu, obejmujące m.in. ocenę wpływu tego związku na właściwości antyoksydacyjne szeroko stosowanych w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym surowców zielarskich pozyskiwanych z nagietka lekarskiego oraz na stan biologiczny gleby są bardzo cenne. Zmiany aktywności biologicznej gleb są najwcześniejszym sygnałem zmian intensywności procesów życiowych w środowisku, co wynika z tego, że wiele związków chemicznych nabiera cech toksycznych lub mutagennych po metabolicznych przekształceniach zachodzących w organizmach żywych. Te aspekty dowodzą, że wybór tematu rozprawy doktorskiej pt.: „Wybrane ekotoksykologiczne i biochemiczne aspekty obecności w glebie pozostałości napropamidu” jest bardzo uzasadniony, a problematyka niezmiernie ważna, zarówno z poznawczego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Autor posłużył się w badaniach między innymi licznymi mikrobiotestami, pozwalającymi na precyzyjne określenie toksyczności napropamidu i ocenę realnego zagrożenia związanego ze stosowaniem herbicydu Devrinol 450 SC (zawartość napropamidu $450 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) w uprawie roślin leczniczych. Wyprzedzając szczegóły recenzji z satysfakcją podkreślam, że rozprawa doktorska Pana mgr inż. Mirosława Onyszki wnosi nowe, oryginalne i ważne informacje, dotyczące ekotoksykologicznego oddziaływania napropamidu, co może stanowić duże ułatwienie w opracowaniu prawidłowej agrotechniki w uprawie roślin zielarskich. Ma to szczególne znaczenie w odniesieniu do szerokiego zastosowanie nagietka lekarskiego w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

3. Formalna analiza rozprawy

Przedłożona do oceny rozprawa została przygotowana w oparciu o oryginalne wyniki badań własnych, zrealizowanych przez Autora w ramach modelowego doświadczenia laboratoryjnego oraz trzyletniego doświadczenia polowego. Liczy 107 stron. Całość została podzielona na 7 głównych części, wyodrębnionych zgodnie z klasycznym schematem redagowania prac naukowych. Są to:

1. **Wstęp i cel pracy** (obejmujący i uzasadniający szczegółowe cele badań);
2. **Przegląd literatury**, z sześcioma podrozdziałami I rzędu, a tym 3 podrozdziały: 2.4.1.-2.4.3.;

3. **Material i metody**, z trzema podrozdziałami I rzędu, w tym 8 podrozdziałów II rzędu i 2 podrozdziały III rzędu;
4. **Opis wyników** – z dwoma podrozdziałami I rzędu, w tym 9 podrozdziałów II rzędu oraz 14 podrozdziałów III rzędu;
5. **Dyskusja**;
6. **Wnioski**;
7. **Bibliografia**.

W pracy zamieszczono streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz ważniejszych oznaczeń oraz bogaty materiał dokumentacyjny, obejmujący:

- 27 tabel zawierających w większości, opracowane statystycznie wyniki badań, w tym zestawione wyniki przeprowadzonych mikrobiotestów.
- 30 rysunków, w tym 14 barwnych diagramów ilustrujących szczegółowe wyniki badań, podnoszących walory estetyczne pracy i wpływających korzystnie na możliwość odbioru jej treści przez czytelnika.

Układ rozprawy nie budzi żadnych zastrzeżeń, jest ograniczony do zagadnień merytorycznych, niezbędnych dla przeprowadzenia wywodu zgodnego z koncepcją Autora. Poszczególne rozdziały i podrozdziały pracy ściśle się zazębiają i stanowią logiczną całość, co ułatwia jej studiowanie.

Tytuł pracy jest komunikatywny i w pełni oddaje istotę rozprawy.

Praca jest napisana bardzo ładnym językiem, w sposób pozwalający na dokładne śledzenie prowadzonych badań i analizę uzyskanych wyników. Ma to istotne znaczenie w świetle faktu, że rozprawa obejmuje problematykę, która wymaga stosowania precyzyjnej terminologii, nie pozwalającej na wprowadzanie uproszczeń.

Wykaz literatury sporządzony jest bardzo starannie. Bazę bibliograficzną rozprawy stanowi 206 pozycji literaturowych, większość angielskojęzyczna (129 pozycji – ponad 62%), które pod względem formalnym cytowane są w sposób właściwy oraz 3 źródła internetowe. Wysoce pozytywnie oceniam również to, że w opracowaniu wykorzystano 73 pozycje piśmiennictwa naukowego opublikowane w ostatnich latach, tj. 2010-2016.

4. Merytoryczna analiza pracy

Rozprawa została przygotowana w oparciu o oryginalne wyniki doświadczenia laboratoryjnego przeprowadzonego w układzie kompletnej randomizacji, w warunkach kontrolowanych, w Laboratorium Diagnostycznym Stanu Środowiska Przyrodniczego Katedry Fizjologii Roślin i Biochemii Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa

Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie oraz trzyletniego doświadczenia polowego z nagietkiem lekarskim (*Calendula officinalis* L.) odmiany Pacific Persimmon Beauty, jako rośliną testową. Doświadczenie laboratoryjne i polowe przeprowadzono na glebie zakwalifikowanej do gliny piaszczysto-ilastej. W ramach doświadczenia laboratoryjnego Autor określił: szybkość zanikania napropamidu w glebie; wpływ dawki herbicydu Devrinol 450 SC (zawartość napropamidu $450 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) na aktywność wybranych enzymów glebowych (dehydrogenaz, ureazy, fosfatazy kwaśnej i zasadowej) oraz toksyczność gleby zawierającej herbicyd w stosunku do skorupiaków *Heterocyptis incongruens* i na podstawie testu wykorzystującego bakterie luminescencyjne *Vibrio fischeri*.

W doświadczeniu poletkowym, prowadzonym w latach 2013-2015, w 4 terminach każdego roku (bezpośrednio po wprowadzeniu preparatu oraz w poszczególnych fazach rozwojowych rośliny testowej: dwóch par liści, zawiązywania pąków oraz kwitnienia) badano wpływ wprowadzonych dawek herbicydu (0, połowa dawki polowej, dawka polowa oraz dwukrotność dawki polowej) na aktywność wymienionych wyżej enzymów oraz na zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie. Ponadto Doktorant przeprowadził szerokie badania składu chemicznego surowców zielarskich pozyskanych z nagietka lekarskiego, w zakresie zawartości: polifenoli, flawonoidów, karotenoidów, chlorofilu oraz aktywności antyoksydacyjnej. Chcę podkreślić, że zastosowana w pracy dwuetapowa koncepcja badań, obejmująca w pierwszym etapie systemowe analizy i tworzenie modeli prognostycznych w warunkach kontrolowanych, a w kolejnym etapie przeprowadzenie badań w warunkach polowych zasługuje na wysokie uznanie.

Konstrukcja pracy jest poprawna i przejrzysta. We wstępie zamieszczono informuje o zagadnieniach jednoznacznie uzasadniających strategiczny cel pracy, który Autor precyzuje jako określenie oddziaływania napropamidu na środowisko glebowe oraz na wybrane parametry antyoksydacyjne surowców zielarskich pozyskanych z nagietka lekarskiego. Szczegółowe cele pracy, pozwalające na realizację celu głównego, obejmują:

- określenie szybkości zanikania napropamidu w glebie;
- ocenę wpływu napropamidu, zastosowanego w różnych dawkach, na wybrane procesy biologiczne w glebie, zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i polowych;
- oszacowanie zależności między zawartością napropamidu i parametrami biochemicznymi gleb;
- określenie stopnia toksyczności napropamidu w stosunku do wybranych organizmów wykorzystywanych w biotestach;

- porównanie oddziaływania napropamidu na wybrane właściwości antyoksydacyjne surowców zielarskich pozyskanych z nagietka lekarskiego.

W rozdziale **Przegląd literatury** Autor informuje o zagadnieniach, które porusza w swojej rozprawie doktorskiej. Rozdział ten, przedstawiony na 17 stronach, został napisany poprawnie pod względem formalnym i merytorycznym. W kolejnych podrozdziałach Doktorant, wykorzystując przegląd krajowej i światowej literatury, przedstawia charakterystykę napropamidu, mechanizm jego działania chwastobójczego, omawia czynniki wpływające na losy i poziom sorpcji tego związku w glebie oraz problemy związane ochroną upraw zielarskich, analizuje badania w zakresie oceny aktywności biologicznej gleby i wykorzystania mikrobiotestów, omawia także znaczenie i wykorzystanie nagietka lekarskiego. Cały rozdział został napisany wyczerpująco, jasno i ładnym językiem. Czyni to dobrą podstawę do analizy rozwiązań metodycznych i dyskusji wyników.

Rozdział **Material i metody**, przedstawiony na 10 stronach, został opracowany w sposób jasny i prawidłowy. Materiał i metody wybrano poprawnie, wyczerpująco opisano, a doświadczenia zostały właściwie zaplanowane i przeprowadzone. Autor bardzo szczegółowo, na wysokim poziomie merytorycznym, scharakteryzował przedmiot i metody badań oraz warunki meteorologiczne w trakcie doświadczenia polowego i zastosowane testy statystyczne. Na uwagę zasługuje profesjonalne opracowanie i bardzo staranna prezentacja metodyki przeprowadzania mikrobiotestów. 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 Doktoranta nowoczesnego warsztatu badawczego.

Tak wykonane badania czynią wiarygodnym cały rozdział **Opis wyników**. W rozdziale tym na 39 stronach bardzo wnikliwie, jasno i precyzyjnie omówiono uzyskane rezultaty, które zilustrowano przejrzystymi, estetycznie wykonanymi tabelami i rysunkami. Zarówno tytuły tabel, jak i rysunków są bardzo komunikatywne i jednoznacznie informują czytelnika o rodzaju przedstawianych i analizowanych cechach. Autor wykazał się bardzo dobrą i wyważoną interpretacją uzyskanych rezultatów, a także umiejętnością korzystania z weryfikacji statystycznej. Zamieszczone szczegółowe wyniki analizy statystycznej pozwalają nie tylko na prawidłową interpretację uzyskanych danych, ale także czynią je wiarygodnymi. Sposób ich przedstawienia spełnia wymogi współczesnych opracowań naukowych. Chcę podkreślić, że rozdział **Opis wyników**, ułożony w logiczną sekwencję problematyczną został napisany bardzo profesjonalnie. Można tutaj wyróżnić część analityczną i syntetyczną. W części analitycznej Doktorant dokonuje opisu wyników

doświadczeń w ujęciu badanych czynników i ich interakcji. W części syntetycznej rozpatruje związki pomiędzy różnymi zmiennymi, traktując czynniki doświadczenia jako źródła kontrolowanej zmienności. Jest to podejście prawidłowe, odpowiadające wymaganiom rozpraw naukowych, które nie powinny stanowić jedynie prostego opisu faktów.

Bardzo ważnym elementem rozprawy jest odrębny rozdział **Dyskusja** przedstawiony na 8 stronach. Uzyskane wyniki badań zostały bardzo dobrze skonfrontowane z obszerną literaturą naukową. Autor dokładnie porównuje swoje wyniki z danymi literaturowymi, wyjaśnia zależności i tendencje uzyskane w badaniach własnych, jednocześnie wyraźnie prezentuje swój punkt widzenia. Rozdział ten charakteryzuje się wysokim poziomem naukowym. Jednakże mogłaby być nieco skrócona część wprowadzająca, ponieważ informacje na temat uprawy ziół w Polsce przewijały się już we wcześniejszych rozdziałach (**Wstęp i cel pracy** oraz **Przegląd literatury**) i chociaż są istotne dla podjętego w pracy tematu, to w rozdziale **Dyskusja** mogą sprawiać wrażenie powtórzenia. Taka sama uwaga dotyczy informacji na temat celu i skutków stosowania herbicydów na plantacjach roślin uprawnych (str. 79).

Ostatecznym efektem rozprawy jest rozdział **Wnioski**. Wnioski w liczbie 10 zostały sformułowane w sposób wyważony i precyzyjny, aczkolwiek moim zdaniem niektóre z przedstawionych wniosków zawierają stwierdzenia. Generalnie, sformułowane przez Autora wnioski są adekwatne do uzyskanych wyników badań i oprócz czysto poznawczych walorów, mają one również duże znaczenie praktyczne.

Zamieszczone w pracy streszczenie jest wyważone i nie budzi zastrzeżeń. Na wyróżnienie zasługuje kompleksowe spojrzenie na zagadnienia sformułowane w tytule pracy, a także prawidłowo rozłożone akcenty.

Zakres osiągnięć naukowych pracy jest bardzo szeroki. Do najważniejszych zaliczam:

- Udokumentowanie, że czas połowicznego zaniku napropamidu w glebie zwiększa się wraz ze wzrostem wielkości dawki herbicydu.
- Wykazanie, że napropamid zastosowany w dawce zalecanej przez producenta nie powoduje zagrożenia ekotoksykologicznego.
- Udokumentowanie, że podwyższona dawka napropamidu (2-krotnie wyższa od zalecanej przez producenta) wpływa negatywnie na aktywność biologiczną gleby.
- Wykazanie, że oddziaływanie napropamidu na aktywność biologiczną gleby zależy także od terminu pomiaru i rodzaju enzymu.
- Wykazanie, że aktywność dehydrogenaz, spośród wszystkich badanych enzymów, jest najbardziej czułym wskaźnikiem obecności napropamidu w glebie.

- Udokumentowanie, że stosowanie napropamidu powoduje zaburzenie wzajemnych zależności między parametrami biologicznymi gleby.
- Wykazanie, że gleba zawierająca napropamid nie jest toksyczna dla organizmów testowych – skorupiaków *Heterocypris incongruens* i bakterii luminescencyjnych *Vibrio fischeri*.
- Wykazanie, że spośród analizowanych parametrów w surowcach zielarskich pozyskiwanych z nagietka lekarskiego największe zmiany wywołane stosowaniem napropamidu zaznaczyły się w przypadku zawartości flawonoidów i chlorofilu.
- Udokumentowanie, że napropamid zastosowany w dawce zalecanej przez producenta nie wpływa negatywnie na jakość surowców zielarskich pozyskiwanych z nagietka lekarskiego, co w praktyce pozwala na racjonalne stosowanie testowanego herbicydu w uprawie roślin leczniczych.

Wykaz literatury sporządzony jest bardzo profesjonalnie.

Powyższa charakterystyka pracy upoważnia mnie do bardzo wysokiej oceny zarówno wybranej tematyki, jak i sposobu zrealizowania postawionego zadania. Obszerność zebranego materiału dowodowego ma znaczenie fundamentalne. Na uwagę zasługuje również kompleksowe ujęcie badań. Doktorant wykazał się także umiejętnością organizacji warsztatu badawczego, logiką wyводу, prawidłową ekspozycją istotnych wątków.

Należy podkreślić, że rozprawa doktorska mgr inż. Mirosława Onyszki wnosi do literatury oryginalne wyniki mające nie tylko znaczenie poznawcze, ale również duże znaczenie praktyczne. Wyniki badań są szczególnie przydatne w ramach zrównoważonej uprawy leczniczych roślin zielarskich.

Przedstawiona rozprawa stanowi wyróżniający przykład dysertacji i pozbawiona jest uchybień merytorycznych. Również poprawność języka nie budzi żadnych zastrzeżeń. W całej pracę dostrzegłam tylko 2! drobne usterki:

- na str. 12: „...zagrożenie ekotoksykologiczne dla środowiska ...” – ekotoksykologia dotyczy środowiska;
- na str. 32: jest zebrani zamiast zebrano.

Uwagi dotyczące rozdziałów **Dyskusja** i **Wnioski** mają charakter dyskusyjny i w niczym nie obniżają wartości rozprawy doktorskiej. Rozprawa jest nowatorska, bardzo starannie przygotowana, prezentuje wysoki poziom merytoryczny, wnosi do literatury oryginalne wyniki mające nie tylko znaczenie poznawcze, ale również duże znaczenie praktyczne. Została wykonana bez zastrzeżeń pod względem metodycznym. Wyniki są bardzo

starannie opracowane i czytelnie prezentowane, a ich dyskusja osadzona w realiach najnowszej literatury przedmiotu.

Wniosek końcowy

Przedstawiona powyżej charakterystyka rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Mirosława Onyszki pt.: „Wybrane ekotoksykologiczne i biochemiczne aspekty obecności w glebie pozostałości napropamidu” upoważnia mnie do bardzo wysokiej oceny, zarówno wybranej problematyki, jak i sposobu zrealizowania postawionego zadania. Praca napisana jest zwięzłym i profesjonalnym językiem, posiada dobrze zarysowany cel, zakres i metodykę, wnosi do literatury oryginalne wyniki mające nie tylko znaczenie poznawcze, ale również duże znaczenie praktyczne.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone Ustawą 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 ze zm. w Dz. U. z 2005 r., nr 164, poz. 1365). Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie Pana mgr inż. Mirosława Onyszko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Chcę podkreślić, że treść rozprawy jednoznacznie kwalifikuje Pana mgr inż. Mirosława Onyszko do ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie naukowej *ochrona i kształtowanie środowiska*.

Jednocześnie z uwagi na wielkie walory poznawcze, wynikające z kompleksowości i dogłębności badań wraz z ich dużą wartością poznawczą i użyteczną oraz wzorowe opracowanie wyników i wyważoną ich interpretację stawiam wniosek o wyróżnienie pracy nagrodą JM Rektora Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie.



prof. dr hab. Elżbieta Jolanta Bielińska