



Dr hab. Ludwik Żołnierz, prof. UPWr

Wrocław, 27 października 2017 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Krzysztofa Zawadzkiego pt. „*Pleurozium schreberi* i *Polytrichum commune* jako ekologiczne wskaźniki zanieczyszczenia środowiska rtęcią i innymi metalami”

Promotor: prof. dr hab. Aleksandra Samecka-Cymerman

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została poświęcona problematyce wykorzystania mchów w bioindykacji zanieczyszczeń metalami ciężkimi ze szczególnym uwzględnieniem rtęci. Problematyka ta, aczkolwiek intensywnie eksplorowana już od lat sześćdziesiątych ubiegłego stulecia, wciąż pozostaje jednym z istotnych nurtów badań ekologicznych. Dzieje się tak z kilku powodów. Mimo postępu w technologiach produkcji oraz ograniczania emisji zanieczyszczeń zarówno ze źródeł przemysłowych, jak i komunikacyjnych, skażenie metalami pozostaje ważnym problemem tak w środowisku życia człowieka, jak i w kontekście funkcjonowania biocenoz różnych ekosystemów naturalnych. Z drugiej strony przegląd literatury przedmiotu prowadzi do konstatacji, że współczesna nauka zgromadziła już ogromną wiedzę dotyczącą biogeochemii metali, mechanizmów ich oddziaływania na poziomie molekularnym i komórkowym, specyfiki reakcji poszczególnych grup systematycznych organizmów na poziomie fizjologicznym i ekologicznym oraz konsekwencji biocenotycznych nadmiaru tych pierwiastków w środowisku. Intensywnie badaną grupą systematyczną roślinnych bioindykatorów są mchy. Specyfika morfologiczna i fizjologiczna ich gametofitów pozwala wykorzystywać te rośliny jako precyzyjne wskaźniki ilościowe i jakościowe immisji

zanieczyszczeń atmosferycznych w sposób niezależny od właściwości biotopów badanych ekosystemów. Materiał badawczy ocenianej dysertacji został zawarty w dwóch publikacjach dotyczących reakcji mchów *Pleurozium schreberi* i *Polytrichum commune* na metale emitowane przez wybrane zakłady przemysłowe. Pierwszy artykuł: "Metals in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune* from areas with various levels of pollution" autorstwa Krzysztofa Zawadzkiego i pięciu współpracowników został opublikowany (2016) w czasopiśmie *Environmental Science and Pollution Research* wydawanym przez Springer Verlag o współczynniku oddziaływania impact factor 2.741. Drugi, również z udziałem pięciu współautorów: „Mercury in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune* from areas with various levels of Hg pollution – an accumulation and desorption experiment with microscopic observations” ukazał się drukiem w roku 2014 w czasopiśmie *Ecotoxicology and Environmental Safety* wydawanym przez Elsevier o współczynniku oddziaływania 3.743. Pan mgr Krzysztof Zawadzki jest pierwszym autorem obu artykułów, które zostały zamieszczone jako rozdziały 2 i 3 przedstawionej do oceny rozprawy. Sadzę, że w sytuacji współpracy każdorazowo sześciorga autorów z różnych ośrodków celowe byłoby podanie w rozprawie informacji na temat zakresu wykonanych prac i rozmiaru udziału Doktoranta.

W pierwszym rozdziale rozprawy „Wprowadzenie” Autor krótko zaznaja czytelnika z właściwościami mchów predestynującymi je do wykorzystania w bioindykacji opadu zanieczyszczeń atmosferycznych zawierających metale. Zwraca przy tym uwagę na różnice pomiędzy mchami ektohydrycznymi i endohydrycznymi, których w części odmienny sposób pobierania wody ma znaczenie w świetle ich zdolności gromadzenia pierwiastków, a zatem i przydatności w roli biowskaźników. Gatunki reprezentujące te dwie grupy zostały wybrane do badań opisywanych w ocenianej rozprawie. W dalszej części bardzo lakonicznie zostało zasygnalizowane znaczenie ekologiczne zanieczyszczeń zawierających metale z zaakcentowaniem w tym kontekście roli rtęci, jako pierwiastka szczególnie niebezpiecznego. Rozdział „Wprowadzenie” zaznaja czytelnika z problematyką, wskazuje główne pozycje literatury i formułuje ogólny cel programu badań. Cele szczegółowe znajdują się w zamieszczonych artykułach w kolejnych rozdziałach. W końcowej części

„Wprowadzenia” zestawione zostały hipotezy weryfikowane w toku badań opisanych w obu artykułach. Rozdział napisany jest poprawnym językiem i w przystępny sposób. Sądzę jednak, że nieco obszerniejsze przedstawienie problematyki, zwłaszcza w aspekcie osobliwości znaczenia ekologicznego rtęci na tle innych metali oraz znaczenia zróżnicowania morfologiczno-fizjologicznego mchów mocniej uzasadniałoby wybór tematyki badań i wykorzystanych w nich gatunków.

Rozdział 2 zawiera artykuł “Metals in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune* from areas with various levels of pollution” autorstwa Krzysztofa Zawadzkiego, Aleksandry Sameckiej-Cymerman, Krzysztofa Kolona, Bronisława Wojtunia i Alexandra J. Kempersa, który ukazał się w czasopiśmie *Environmental Science and Pollution Research* w roku 2016. Jest zatem chronologicznie późniejszy od publikacji poświęconej gromadzeniu rtęci przez badane mchy, która została zamieszczona w rozprawie jako druga. Taka kolejność jest jednak ze wszech miar uzasadniona logicznie. Pierwsza praca pokazuje zróżnicowanie reakcji badanych mchów na szerszą paletę pierwiastków, druga przedstawia wyniki pogłębionych badań dotyczących rtęci.

Badania relacjonowane w obu artykułach prowadzono w otoczeniu pięciu zakładów przemysłowych o różnym charakterze i wielkości ładunku emitowanych zanieczyszczeń. Były to: zakłady chemii chloroorganicznej, huta szkła, dwie elektrownie węglowe oraz fabryka wyrobów ceramicznych i porcelanowych. Powierzchnie badawcze rozmieszczono wzdłuż transektów wyznaczonych od źródeł emisji w czterech zasadniczych kierunkach świata w odległościach od 0.75 do 6 km. W obu projektach badawczych porównywano reakcje dwóch gatunków mchów: *Pleurozium schreberi* i *Polytrichum commune*. Pierwszy z tych gatunków jest mchem ektohydrycznym o wzroście plagiotropowym i nieskomplikowanej budowie wewnętrznej. Drugi to gatunek endohydryczny i ortotropowy o powierzchni chłonnej powiększonej dzięki obecności systemu lameli w budowie listków.

Niedopatrzeniem, które uszło uwadze recenzentów obu publikacji jest brak istotnej moim zdaniem informacji na temat zbiorowisk roślinnych, w których wyznaczone były powierzchnie badawcze.

Celem pierwszej pracy ("Metals in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune*...") było porównanie zdolności bioakumulacji metali dwóch badanych gatunków mchów. Testowano hipotezę zakładającą, że *P. commune* w zanieczyszczonych środowiskach będzie gromadził wyższe ilości metali z uwagi na specyfikę budowy liści i zdolność do akumulacji metali z gleby. Hipoteza ta została pozytywnie zweryfikowana w wypadku kadmu, chromu, niklu, ołowiu i cynku, nie stwierdzono natomiast różnic w wypadku pozostałych badanych pierwiastków (Cu, Co, Fe i Mn). Autorzy skłonni są przypisać uzyskane wyniki wspomnianym wyżej właściwościom *P. commune*, jednak zastrzegają, że precyzyjne wyjaśnienie tych zależności wymaga dalszych badań.

Moją uwagę w trakcie lektury tego artykułu zwróciło wykorzystanie rzadko spotykanego w pracach ekologicznych modelu MARS - nieparametrycznej wielozmiennej regresji adaptacyjnej z użyciem funkcji sklepanych (Multivariate Adaptive Regression Splines). Zastosowanie tej oryginalnej metody analizy statystycznej uważam za walor pracy. Pozwoliła ona wykazać różnice we wzorcu akumulacji pierwiastków pomiędzy badanymi mchami w relacji do odległości od źródła emisji.

W rozdziale 3 zamieszczona została praca pt. „Mercury in *Pleurozium schreberi* and *Polytrichum commune* from areas with various levels of Hg pollution – an accumulation and desorption experiment with microscopic observations” (2014). Jej autorami są: Krzysztof Zawadzki, Katarzyna Sokołowska, Aleksandra Samecka-Cymerman, Krzysztof Kolon, Anna Dubińska i Alexander J. Kempers.

Publikacja przynosi wyniki szeroko zakrojonych badań obejmujących: 1) analizy zawartości rtęci w próbach obu gatunków mchów oraz gleb pobranych z powierzchni badawczych w otoczeniu źródeł emisji; 2) doświadczenie dotyczące akumulacji i desorpcji rtęci prowadzone z wykorzystaniem komór, w których badane mchy eksponowane były na działanie par tego pierwiastka i 3) obserwacje mikroskopowe uszkodzeń komórek liści *Pleurozium schreberi* wywołanych działaniem rtęci w trakcie trwania wspomnianego wyżej eksperymentu.

W toku badań weryfikowano następujące hipotezy: 1) ortotropowy i endohydryczny *Polytrichum commune* jest lepszym bioindykatorem

zanieczyszczenia rtęcią w porównaniu z plagiotropowym i ektohydrycznym *Pleurozium schreberi* dzięki właściwościom morfologicznym liści, a szczególnie obecności lameli powiększających powierzchnię chłonną; 2) obydwie gatunki są zdolne do uwalniania zgromadzonej rtęci, kiedy nie ma jej już w środowisku oraz 3) rtęć negatywnie wpływa na funkcjonowanie komórek liści *P. schreberi* prowadząc do dezintegracji ich struktury i zamierania.

Badania przyniosły szereg wartych uwagi wyników. Do najważniejszych można zaliczyć:

1. Obydwie gatunki występując na silnie zanieczyszczonych powierzchniach pobierały wysokie ilości rtęci osiągając koncentracje przekraczając poziom przyjęty za właściwy dla europejskich mchów ($<0.02 \text{ mg kg}^{-1}$). Obydwie gatunki zostały uznane za dobre bioakumulatory rtęci.
2. Najwyższe zawartości rtęci stwierdzono w mchach z otoczenia zakładów chemii chloroorganicznej w Brzegu Dolnym.
3. *Polytrichum commune* gromadził wyższe koncentracje rtęci w porównaniu z *P. schreberi*, co autorzy wiążą z właściwościami morfologicznymi gatunku zwiększającymi jego zdolności przechwytywania rtęci z atmosfery.
4. W doświadczeniu badającym zdolności do akumulacji lotnej postaci rtęci i następnie jej desorpcji po ustaniu ekspozycji *P. commune* gromadził większe ilości tego pierwiastka, co autorzy tłumaczą większą powierzchnią chłonną zarówno na poziomie poszczególnych gametofitów (lamelle w liściach), jak i ich skupień.
5. Obserwacje mikroskopowe wykazały widoczny szczególnie w starszych listkach *P. schreberi* destrukcyjny wpływ rtęci na błony komórkowe, chloroplasty i jądra komórkowe. Zmiany te u *P. schreberi* pojawiają się znacznie później w porównaniu z analogicznymi symptomami wskazywanymi przez innych autorów w odniesieniu do roślin naczyniowych. Wynik ten jest moim zdaniem bardzo istotny i dlatego dziwię się, że nie został podkreślony w publikowanej pracy.

6. Uzyskane wyniki analiz akumulacji rtęci kwestionują istnienie u badanych gatunków mechanizmu tolerancji na ten pierwiastek odpowiadający strategii unikania pobierania, spotykanej u roślin naczyniowych, a sugerowanego przez niektórych badaczy również w wypadku mchów występujących w skażonych rejonach.

Rozdział czwarty „Podsumowanie” streszcza wyniki przedstawione w obu publikacjach i kończy się zestawieniem wniosków. Zastanawiające dla mnie jest to, że dotyczą one tylko drugiej publikacji poświęconej rtęci, a zupełnie pominięte zostały wnioski z pierwszej pracy. W końcowej części rozprawy dostrzegam właśnie brak próby uogólnienia wniosków płynących z całego programu badań ze wskazaniem zarówno wzajemnie uzupełniających się elementów zawartych w obu publikowanych artykułach, jak i pozostałych do wyjaśnienia luk.

Do głównych osiągnięć ocenianej rozprawy zaliczam:

1. Nowatorskie porównanie zdolności do akumulacji metali przez pospolite mchy o diametralnie odmiennych właściwościach morfologiczno-fizjologicznych: ortotropowego i endohydrycznego *Polytrichum commune* oraz plagiotropowego i ektohydrycznego *Pleurozium schreberi*.
2. Uzyskanie wartościowych wyników w badaniach eksperymentalnych dotyczących akumulacji i desorpcji rtęci przez badane gatunki mchów połączonych z obserwacjami mikroskopowymi wykorzystującymi zaawansowane techniki barwienia preparatów.
3. Szeroko zaplanowane i obfitujące w cenne wyniki wielowątkowe badania rtęci jako pierwiastka o doniosłej roli biologicznej i osobliwego na tle innych metali z uwagi na różnorodność form występowania.
4. Zastosowanie wielozmiennej regresji adaptacyjnej z użyciem funkcji sklepanych (Multivariate Adaptive Regression Splines - MARS) do wykazania różnic w akumulacji pierwiastków przez *P. commune* i *P. schreberi*.

Fakt opublikowania artykułów w prestiżowych czasopismach daje rękojmię ich wysokiej wartości naukowej i pozwala oczekiwać, że spotkają się z rezonansem wśród innych badaczy. Drobne niedostatki i uchybienia, które wskazałem powyżej

nie wpływają na moją wysoką ocenę recenzowanej rozprawy. Na podstawie przeglądu literatury stwierdzam, że opublikowane prace zawarte w rozprawie mgr. Krzysztofa Zawadzkiego wypełniają istotne luki w wiedzy na temat wartości bioindykacyjnej badanych mchów, szczególnie w odniesieniu do rtęci.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa mgr. Krzysztofa Zawadzkiego wnosi oryginalny i wartościowy wkład do poznania problematyki reakcji mchów *Pleurozium schreberi* i *Polytrichum commune* na metale ciężkie oraz ich wykorzystania jako biologicznych wskaźników zanieczyszczenia tymi pierwiastkami, a tym samym ma istotne znaczenie naukowe. Jestem przekonany, że rozprawa ta odpowiada wymogom stawianym dysertacjom doktorskim zgodnie z przepisami ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie pana mgr. Krzysztofa Zawadzkiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ludwik Żelazny