

**Recenzja pracy doktorskiej mgr. Mariusza Chrabąszcza
pod tytułem: „Wpływ siedlisk o różnym stopniu zanieczyszczenia
na zawartość pierwiastków śladowych i polifenoli w *Sambucus nigra* L.”,
napisanej pod kierunkiem dr hab. Lucyny Mróz.**

Zanieczyszczenie chemiczne środowiska stanowi problem o charakterze globalnym, wpływając na kondycję organizmów i całych ekosystemów. Pomimo uregulowań prawnych nadal istnieją obszary narażane na depozycję zanieczyszczeń pochodzących ze źródeł punktowych, liniowych i powierzchniowych. Obciążeniem jest również zanieczyszczona gleba, z której substancje poprzez system korzeniowy mogą być transportowane do naziemnych części roślin lub osadzać się na nich wskutek pylenia gleby.

Od kilku dekad do oceny zanieczyszczenia środowiska wykorzystywane są metody biomonitoringowe, które są dobrym uzupełnieniem tradycyjnych metod oceny jakości środowiska. Spośród wielu metod i technik wyróżniają się metody, które polegają na identyfikacji pierwiastków lub związków chemicznych zakumulowanych w organizmach (bioakumulatorach) i których stężenia są proporcjonalne do stężenia tych substancji w środowisku. Badane są również, będące skutkiem zanieczyszczenia środowiska, zmiany fizjologiczne, anatomiczne i morfologiczne organizmów. Sprawdzonejmi bioakumulatorami wykorzystywanymi w biomonitoringu zanieczyszczenia powietrza są mchy i porosty, ale nadal poszukiwane są rośliny, które gromadzą mieralne stężenia substancji, przekładające się na ich stężenia w otaczającym środowisku, i w tym kontekście należy rozpatrywać zasadność badań przeprowadzonych przez Pana mgr Mariusza Chrabąszcza, których głównym celem było zbadanie możliwości wykorzystania bzu czarnego do oceny zanieczyszczenia środowiska pierwiastkami śladowymi oraz zbadanie wpływu zanieczyszczenia na zmiany aktywności antyoksydacyjnej i stężenia polifenoli w liściach, owocach i korze *S. nigra*.

Charakterystyka układu rozprawy doktorskiej

Całość dysertacji obejmuje 164 strony. Pracę podzielono na 9 części (zatytułowanych: *Wstęp*, *Charakterystyka gatunku*, *Charakterystyka obszaru badań*, *Materiał i metody*, *Wyniki*, *Dyskusja*, *Podsumowanie*, *Wnioski*, *Piśmiennictwo*), uzupełnionych streszczeniem w j. polskim i angielskim, spisem tabel, spisem rysunków i aneksem, w którym zamieszczono tabele z danymi charakteryzującymi obszary badań, tabele z wynikami badań oraz rysunki i wykresy. We wstępie Doktorant zamieścił cele i tezy pracy oraz sformułował celowość prowadzonych badań. Rozdział pt. *Charakterystyka gatunku* (strony 10-14) zawiera opis cech morfologicznych, ekologię i zastosowanie bzu czarnego w lecznictwie, przemyśle spożywczym i kosmetycznym. Kolejny rozdział pt. *Charakterystyka obszaru badań* (strony 15-19) zawiera treści dotyczące położenia, geologii, klimatu i szaty roślinnej badanych obszarów z uwzględnieniem źródeł ich zanieczyszczenia. W kolejnym rozdziale *Materiał i metody* (strony 20-24) omówił sposoby pobierania próbek, metody analizy chemicznej oraz sposoby statystycznej interpretacji wyników. W rozdziale *Wyniki* (strony 25-35) Doktorant wyszczególnił wyniki dotyczące zawartości badanych pierwiastków w glebie, liściach, korze i owocach bzu czarnego, wskazał na rozkład stężeń badanych pierwiastków w naziemnych częściach roślin oraz przedstawił wyniki oznaczeń polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej. Rozdział *Dyskusja* (strony 41-74) został podzielony na 8 części, w których Doktorant omówił wyniki odczynu i zawartości badanych pierwiastków w glebie, odniósł się do wyników badań odczynu kory, zanieczyszczenia liści, kory i owoców bzu czarnego, wpływu natężenia ruchu na zawartość badanych pierwiastków, wyznaczył współczynniki bioakumulacji i przemieszczania, omówił relacje pomiędzy zawartością pierwiastków śladowych w glebie i naziemnych częściach roślin oraz odniósł się do zawartości polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej w kontekście wykorzystania tych parametrów jako wskaźnika stresu. Rozdziały: *Podsumowanie* i *Wnioski* zajmują łącznie 3 strony (strony 75-77). W *Piśmiennictwie* (strony 78-103) zawarł 278 pozycji. W dalszej kolejności Doktorant umieścił: streszczenia w j. polskim i angielskim, spis tabel i spis rysunków. Do treści zasadniczych Doktorant załączył *Aneks*, w którym umieścił tabele z danymi i rysunki. Łącznie 53 strony.

W zasadzie praca została napisana poprawną polszczyzną, zauważyłem nieliczne błędy stylistyczne i interpunkcyjne oraz stosowanie potocznych zwrotów, np. *nie zawartości pierwiastków śladowych*, ale *stężenia pierwiastków śladowych*, *nie wyższy poziom polifenoli*, ale *większe stężenia polifenoli*. Uciążliwym podczas studiowania dysertacji było umieszczenie wszystkich tabel i rysunków w *Aneksie*. Utrudnienia manualne nie sprzyjały koncentracji.

Cele i tezy pracy

Cele sformułowane przez Doktoranta dotyczyły:

- zbadania wpływu zanieczyszczeń emitowanych do środowiska z różnych źródeł, na zawartość wybranych pierwiastków śladowych w glebie oraz liściach, korze i owocach bzu czarnego,
- zbadanie zależności między zawartością pierwiastków śladowych w glebie i zawartością pierwiastków śladowych w liściach, korze i owocach bzu czarnego,
- zbadanie zróżnicowania zawartości pierwiastków śladowych oraz poziomu polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej liści, kory i owoców bzu czarnego,
- zbadanie zależności między zanieczyszczeniem środowiska, a zawartością polifenoli oraz aktywnością antyoksydacyjną liści, kory i owoców bzu czarnego.

Badania dotyczyły weryfikacji następujących hipotez:

1. Występowanie i zawartość pierwiastków śladowych w *S. nigra* pozwala ocenić rodzaj oraz stopień zanieczyszczenia środowiska.
2. Kora zawiera więcej pierwiastków śladowych niż liście i owoce, ponieważ pozostaje dłużej pod wpływem działania zanieczyszczeń.
3. W liściach o wyższej zawartości pierwiastków śladowych wyższy jest poziom polifenoli i wyższa aktywność antyoksydacyjna.

Doktorant wskazał również na celowość swoich badań: „Zbadanie reakcji *S. nigra* na zanieczyszczenie pierwiastkami śladowymi pozwoli na poszarzenie wiedzy o funkcjonowaniu roślin w warunkach zanieczyszczenia oraz zweryfikowanie hipotezy o zdolności tej rośliny do odzwierciedlenia stopnia zanieczyszczenia środowiska pierwiastkami śladowymi”.

Uważam, że zakres prowadzonych badań, cele oraz postawione hipotezy odpowiadają tematowi określone w tytule i są wystarczające do sformułowania właściwych wniosków.

Ocena merytoryczna

Wprowadzeniem do badań jest wstęp i dwa rozdziały, dotyczące: charakterystyki gatunku i charakterystyki obszaru badań, w których Doktorant zawarł najważniejsze informacje, wykorzystywane w dalszej części dysertacji, natomiast, w celu poparcia własnych spostrzeżeń i wniosków, bogaty materiał będący wynikiem starannego przeglądu literatury został zamieszczony przez Doktoranta w rozdziale *Dyskusja*.

Mam dwie uwagi dotyczące prawidłowości sformułowań w tej części pracy: strona 5 - niefortunne pierwsze zdanie wstępu: *Pierwiastki śladowe obejmujące metale i metaloidy ...* sugeruje, że tylko niemetal nie wchodzi w skład pierwiastków śladowych i strona 6, 20 wiersz od góry: *... opadania suchej i mokrej depozycji ...* - to jest pleonazm.

Rozdział *Materiał i metody* zawiera metodykę pobierania próbek, opis prowadzenia analiz chemicznych gleby i materiału roślinnego oraz opis zastosowanych analiz matematyczno-statystycznych. Mogę stwierdzić, że eksperymenty zostały przeprowadzone prawidłowo z zastosowaniem właściwych metod analitycznych. Również analiza statystyczna nie budzi zastrzeżeń.

W tej części pracy brakuje mi jednak danych dotyczących: niepewności oznaczeń oraz granic wykrywalności i oznaczalności zastosowanych metod analitycznych. Nie ma również informacji dotyczących niepewności oznaczeń pierwiastków w materiałach referencyjnych.

W rozdziale *Wyniki* Autor koncentruje się głównie na podaniu rozkładu stężeń oznaczanych pierwiastków w próbkach pobranych na badanych obszarach, z zaznaczeniem potencjalnych źródeł emisji oraz interpretacji statystycznej: korelacjach i podobieństwach analizowanych zmiennych, oceniając stężenia badanych pierwiastków śladowych w glebie oraz w liściach, korze i owocach bzu czarnego, wartości pH gleby i kory, a także stężenia polifenoli i aktywność antyoksydacyjną nadziemnych części *S. nigra*. Wyznaczył również współczynniki bioakumulacji i współczynniki przemieszczania.

Biorąc pod uwagę teren badawczy, liczbę stanowisk, liczbę pobranych próbek z jednego stanowiska oraz liczbę oznaczanych pierwiastków i innych parametrów mogę stwierdzić, że zgromadzone dane poddane analizie statystycznej stanowią znaczący dorobek, wskazujący na duże zaangażowanie Doktoranta.

W części zawierającej dyskusję wyników (Rozdział 6) Autor zinterpretował wyniki badań, motywując swoje spostrzeżenia licznie cytowaną literaturą. Kolejno odniósł się do wyników badań stężeń pierwiastków śladowych w glebie, do odczynu gleby i kory oraz do wyników badań stężeń pierwiastków śladowych w liściach, korze i owocach bzu czarnego. Zinterpretował wyniki pod względem wpływu emisji drogowej oraz zinterpretował wyznaczone wartości współczynników bioakumulacji i przemieszczania, oceniając wpływ stężenia badanych pierwiastków w glebie na ich stężenia w badanych, naziemnych częściach *S. nigra*. Ostatni podrozdział dotyczył dyskusji na temat możliwości oceny poziomu stresu wywołanego zanieczyszczeniem środowiska, na podstawie stężeń polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej *S. nigra*.

Interpretację wyników badań oceniam dobrze, z jednym wyjątkiem, dotyczącym rozkładu depozycji z emisji komunikacyjnej. Niezależnie od źródeł emisji (punktowych, liniowych lub powierzchniowych) rozkład depozycji zależy od prędkości i kierunku wiatrów. Tego czynnika można nie brać pod uwagę w przypadku oceny stanu bieżącego, co w większości analizowanych zagadnień było przez Doktoranta realizowane. Doktorant podjął jednak temat

dotyczący wpływu natężenia ruchu drogowego oraz odległości od najbliższej drogi na zawartość pierwiastków śladowych w naziemnych częściach *Sambucus nigra*. W tym przypadku pominięcie parametrów związanych z położeniem punktu pobierania próbek względem drogi i nieuwzględnianie kierunku wiatrów może prowadzić do błędnych wniosków.

W *Podsumowaniu* i *Wnioskach*, stanowiących osobne rozdziały, Autor uwzględnił wszystkie etapy prowadzonych badań: ustosunkował się do rozkładu stężeń pierwiastków śladowych w glebie oraz korze, liściach i owocach bzu czarnego w odniesieniu do badanych obszarów i potencjalnych źródeł zanieczyszczeń, podsumował wyniki badań dotyczących wyznaczonych współczynników bioakumulacji i współczynników przemieszczania oraz określił korelacje pomiędzy stężeniami pierwiastków śladowych, a stężeniami polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną.

Wnioski sformułowane przez Doktoranta wskazują, że:

1. bez czarny może być wykorzystany do oceny rodzaju i poziomu zanieczyszczenia środowiska,
2. w porównaniu do liści i owoców, w korze bzu czarnego występują stosunkowo duże stężenia: Fe, Cu, Ni, Cr, Pb, Co, As i Cd i porównywalne do liści stężenia: Mn, Zn i Hg,
3. stężenia Fe, Zn, Cu, Cr i As w liściach, w ilościach większych od uznawanych za toksyczne, świadczą o zdolności *S. nigra* do tolerowania dużych stężeń niektórych pierwiastków,
4. współczynniki bioakumulacji wskazują, że głównym źródłem oznaczanych pierwiastków w korze i liściach jest ich depozycja,
5. bez czarny wykazuje tendencję do ograniczania przemieszczania pierwiastków śladowych z liści do owoców,
6. w porównaniu do kory i liści, największe stężenia polifenoli i aktywność antyoksydacyjną wykazują owoce,
7. w liściach występuje dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem kadmu, a stężeniem polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną.

Mam uwagę do wniosku 3, wskazującego na zdolność *S. nigra* do tolerowania dużych stężeń niektórych pierwiastków. Myślę, że ten wniosek nie ma poparcia w zgromadzonych wynikach badań. Przeprowadzone analizy nie dzielą stężeń pierwiastków na czynne biologicznie i unieczynnione w sposób fizyczny w pyłach gromadzonych na powierzchni liści lub unieczynnionych w kutykuli.

Oceniając część eksperymentalną wraz z podsumowaniem i wnioskami uważam, że pomimo uwag, eksperyment został wykonany prawidłowo, a Doktorant wykazał się dobrym poziomem interpretacji wyników.

Podsumowanie

Wyniki badań przedstawione w dysertacji stanowią cenny materiał dotyczący akumulacji pierwiastków śladowych w glebie oraz w korze, liściach i owocach bzu czarnego, zwłaszcza, że próbki pobierane były na obszarach o różnym poziomie depozycji i różnych źródłach emisji deponowanych zanieczyszczeń. Poza zbadaniem składu pierwiastkowego Autor badał możliwości translokacji badanych pierwiastków z gleby do części naziemnych bzu czarnego oraz możliwości przemieszczania się pierwiastków w roślinie. Podjął również badania dotyczące korelacji pomiędzy stężeniami pierwiastków, a stężeniami polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną.

Pomimo przedstawionych przeze mnie uwag i wątpliwości uważam, że Doktorant wykazał się znajomością technik laboratoryjnych oraz procedur wykorzystywanych do interpretacji tego typu wyników badań. Dysertacja zawiera dorobek badawczy warty międzynarodowego rozpowszechnienia oraz wskazujący na celowość kontynuacji podjętych badań.

Do najważniejszych osiągnięć Doktoranta zaliczyć należy zbadanie i opisanie korelacji pomiędzy stężeniami pierwiastków śladowych zakumulowanych w *S. nigra*, a ich depozycją na badanych terenach, wskazanie na ograniczony transfer pierwiastków śladowych z gleby do rośliny oraz, na przykładzie kadmu, że stężenia polifenoli i aktywność antyoksydacyjna może być dodatnio skorelowana ze stężeniami niektórych pierwiastków zakumulowanych w liściach *S. nigra*.

Dorobek naukowy Doktoranta oceniam dobrze. W bazie *Web of Science* odnalazłem 5 pozycji literaturowych współautorstwa Doktoranta (3 czasopisma o dużym wskaźniku *IF*). W jednej publikacji Doktorant jest pierwszym współautorem.

Wniosek końcowy

Uważam, że w świetle obowiązujących przepisów: ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1669, ze zm.), przedstawiona rozprawa doktorska Pana mgr. Mariusza Chrabąszcza spełnia wymagania stawiane rozprawom

doktorskim i wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne, Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pana mgr. Mariusza Chrabąszcza do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Audrey Kloj