



Dr hab. Ludwik Żołnierz, prof. UPWr

Wrocław, 6 grudnia 2022 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Mariusza Chrabąszcza pt. „Wpływ siedlisk o różnym stopniu zanieczyszczenia na zawartość pierwiastków śladowych i polifenoli w *Sambucus nigra* L.”

Promotor: dr hab. Lucyna Mróz

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pana mgr. Mariusza Chrabąszcza jest plonem szeroko zakrojonych badań wpływu zróżnicowanych siedlisk na gromadzenie pierwiastków śladowych oraz syntezę polifenoli w wybranych częściach pędów bzu czarnego *Sambucus nigra*. Autor objął badaniami stanowiska bzu czarnego na terenach przemysłowych, miejskich o zróżnicowanym natężeniu ruchu samochodowego oraz na terenach o niskiej antropopresji w obszarach wiejskich. Badania były prowadzone na bardzo rozległym obszarze obejmującym Dolny Śląsk, Kraków i jego zachodnie okolice oraz teren Ostrawy w północno – wschodnich Czechach. Praca ma głównie znaczenie czysto poznawcze, można jej jednak przypisać również walor użytkowy polegający na ocenie przydatności w bioindykacji skażeń zawierających pierwiastki śladowe pospolicie występującego gatunku.

Przegląd literatury wskazuje, że bez czarny mimo dużego zasięgu geograficznego i wysokiej częstości występowania, w tym na siedliskach antropogenicznie przekształconych, jest wciąż obiektem wartym badań, co Autor skrzętnie wykorzystał.

Istotnym i nowatorskim elementem koncepcji pracy było skojarzenie badań dotyczących biogeochemii gatunku z zawartościami związków polifenolowych oraz aktywnością antyoksydacyjną w tkankach badanych organów.

Manuskrypt rozprawy obejmuje 77 stron tekstu, wykaz 278 pozycji cytowanej literatury oraz zamieszczonych w „Aneksie” na końcu pracy 25 tabel i 29 rysunków. Utrzymany jest w typowym dla reprezentowanej dziedziny nauki układzie rozdziałów ze „Wstępem”, rozdziałami przedstawiającymi charakterystykę gatunku i obszaru badań; rozdziałami: „Materiał i metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Podsumowanie” i „Wnioski”. Rozprawa została również zaopatrzona w streszczenia polskie i angielskie oraz spisy tabel i rysunków.

Autor w krótkim czterostronicowym „Wstępie” przedstawia główne zagadnienia pracy i na koniec formułuje cele badań i hipotezy. Główne zagadnienia przedstawione w tym rozdziale i stanowiące ramy całej rozprawy to: 1) ekologiczne ryzyko obecności pierwiastków śladowych w środowisku przyrodniczym; 2) podkreślona przez Autora dominująca rola źródeł antropogenicznych w ich rozprzestrzenianiu; 3) również trafnie wskazana została konieczność rozpoznania ilości biologicznie czynnych pierwiastków, dostępnych dla organizmów w celu właściwej oceny ryzyk środowiskowych; 4) omówione zostały możliwości wykorzystania porostów, mszaków i roślin naczyniowych w bioindykacji tych pierwiastków, z podkreśleniem roli gatunków drzew i krzewów oraz 5) przedstawiono istotę fizjologicznej roli związków fenolowych w kontekście indukowanych mechanizmów obrony roślin przed stresem chemicznym. W końcowej części „Wstępu” przedstawiony został dotychczasowy zakres badań i stan wiedzy dotyczący problematyki skażeniowej w odniesieniu do *Sambucus nigra*. Autor zwrócił uwagę, że w dotychczasowych badaniach akumulacji pierwiastków i związków fenolowych koncentrowano się na kwiatach i owocach bzu czarnego. Wskazał w ten sposób lukę, którą wykorzystał planując swoje badania. Treść rozdziału jest właściwie dobrana. Jego tekst jest jednak moim zdaniem zbyt lakoniczny. Przynajmniej nieco szersze naświetlenie poruszonych zagadnień ułatwiłoby czytelnikowi wejście w główny nurt pracy. Autor cytuje liczne i jak się wydaje reprezentatywne publikacje

związane z kolejnymi zagadnieniami, jednak i w tym wypadku wydaje mi się, że nieco szersze odniesienie się do ich treści korzystnie odbiłoby się na formie „Wstępu” i jego przystępności.

Wstęp kończy się sformułowaniem czterech celów badań i trzech hipotez testowanych w ich toku. Zgadza się z tak zaplanowanymi celami badań mam pewne zastrzeżenia do użytych sformułowań. W pierwszym celu założono zbadanie „wpływu zanieczyszczeń emitowanych do środowiska z różnych źródeł na zawartość pierwiastków śladowych (...)” w glebie i badanych częściach bzu czarnego. Może to sugerować badania wielkości emisji z wyodrębnionych źródeł. Tak jednak nie było. Próby pobierano na terenach zróżnicowanych pod względem swojego charakteru, gdzie, jak się później okazało słusznie, założono *a priori* różnice w stopniu skażenia siedlisk. Na terenach jednocześnie zurbanizowanych i uprzemysłowionych immisje z różnych źródeł mogą się nakładać. Jeszcze jedna hipoteza poza ich sformułowaną listą (a zarazem cel) zawiera się w zdaniu kończącym rozdział: „Zbadanie reakcji *S. nigra* na zanieczyszczenie pierwiastkami śladowymi pozwoli na poszerzenie wiedzy o funkcjonowaniu roślin w warunkach zanieczyszczenia oraz zweryfikowanie hipotezy o zdolności tej rośliny do odzwierciedlenia stopnia zanieczyszczenia środowiska pierwiastkami śladowymi”.

Bardzo korzystne wrażenie robi lektura rozdziału „Charakterystyka gatunku”. Został napisany z rozmachem i w sposób budzący ciekawość czytelnika. Opisane została charakterystyka morfologiczna bzu czarnego, szeroko zagadnienia jego ekologii i wreszcie zastosowania gatunku. Charakterystyki udokumentowane są obszerną bazą literatury. Dyskusyjna wydała mi się w tym rozdziale teza o odporności *Sambucus nigra* na eutrofizację siedlisk (str. 11). Wydaje mi się, że nie jest to kwestia odporności na czynnik stresowy, ale przeciwnie, mamy do czynienia z gatunkiem o wysokich wymaganiach pokarmowych, typowym nitrofitem (por. liczby wskaźnikowe Ellenberga). Rozdział „Charakterystyka obszaru badań” zaznajamia w sposób zadowalający z ogólną charakterystyką fizjograficzną, skąpo zastała przedstawiona szata roślinna, natomiast użyteczne są zebrane informacje dotyczące obiektów przemysłowych jako głównych punktowych źródeł emisji pierwiastków

badanych w pracy. Niedopatrzeniem w tym rozdziale jest brak skierowania do bardzo ładnie opracowanej i zredagowanej mapy obszaru badań (rysunek 1).

Rozdział „Materiał i metody” zawiera trzy podrozdziały poświęcone poborowi prób, analizom chemicznym gleb i materiału roślinnego oraz analizom matematyczno – statystycznym. Na początku scharakteryzowano 37 wyznaczonych stanowisk badań oraz dokonano ich klasyfikacji na przemysłowe, miejskie i wiejskie. Charakterystyki stanowisk zostały zebrane w tabeli 1. Zawarte w niej informacje wydają się wystarczające. Gdyby jednak współrzędne geograficzne zapisano bardziej precyzyjnie, z częściami sekund, to łatwiej byłoby odnaleźć stanowiska na ortofotomapach. Wskazany byłby bardziej szczegółowy opis pobierania prób gleb – czy stosowano jakiś próbnik (o jakiej średnicy?), czy usuwano zalegającą na powierzchni warstwę nierozłożonej ściółki organicznej? itp. Nie mam zastrzeżeń co do używania w tekście pracy terminu „kora”. W sensie botanicznym jest to jednak termin nieściśły (por. „Słownik botaniczny” pod redakcją Szweykowskich, podręczniki anatomii roślin) i celowe wydaje mi się sprecyzowanie jego znaczenia, np. właśnie w podrozdziale opisującym pobór prób. Można przypuszczać, że wycinane płatki o grubości 2-3 mm na względnie młodych gałęziach obejmowałyby korę pierwotną z wykształconą perydermą, zaś na wieloletnich, które w starszych okazach mogą występować na wysokości 1,5 m mogłaby to być właściwa martwica korkowa.

Opis analiz chemicznych gleb i materiału roślinnego jest wyczerpujący i nie budzi jakichkolwiek wątpliwości. Analizy zostały wykonane z użyciem nowoczesnych metod i niezwykle zaawansowanego technologicznie instrumentarium. Rzetelność oznaczeń oparta była o porównania z certyfikowanymi materiałami referencyjnymi dla gleb i roślin. Także analiza statystyczna danych została starannie przemyślana i w rezultacie tego wybrano właściwe metody pozwalające na uzyskanie maksimum informacji z badanych zmiennych i dające podstawy do wyciągania poprawnych wniosków. Jedyny brak w opisie, który dostrzegłem dotyczy sposobu w jaki badane było natężenie ruchu drogowego. Użyty pakiet statystyczny, którego przejściowym właścicielem w ostatnich latach była cytowana korporacja Dell znany jest powszechnie pod nazwą Statistica.

Uzyskane wyniki opisano na 15 stronach w poświęconym im rozdziale podzielonym w logiczny sposób na podrozdziały dotyczące zawartości pierwiastków w glebach, liściach, korze i owocach bzu, zależności pomiędzy zawartościami pierwiastków w badanych częściach roślin oraz zawartości w nich polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej. Wyniki są zebrane w tabelach i przedstawione na wykresach oraz szczegółowo opisywane w tekście. Zarówno tabele, jak i wykresy zostały bardzo dobrze opracowane i dają możliwość łatwej interpretacji. W tabelach zawarto bardzo szczegółowy zestaw miar w odniesieniu do własnych wyników obejmujący średnie i mediany, a także zakresy zmienności i wartości odchyłeń standardowych. Wartości średnie odniesione zostały do danych dotyczących bzu czarnego ze stanowisk niezanieczyszczonych (Endler i in. 1989) oraz wartości granicznych wziętych z monografii Kabaty-Pendias i Pendiasa (1999). Dobrze zredagowane, czytelne i łatwe w interpretacji są również wykresy słupkowe z zaznaczeniem kategorii stanowisk i grup jednorodnych wydzielonych w testach *post-hoc*. Korzystne przy tym jest zestawienie na jednej stronie i dające się ogarnąć jednym spojrzeniem wykresów dotyczących badanych części bzu – kory, liści i owoców. To samo można powiedzieć o wykresach pudełkowych przedstawiających wyniki analiz zawartości pierwiastków w badanych częściach bzu w odniesieniu do stanowisk zaliczonych do trzech kategorii natężenia ruchu drogowego. Rysunki 25 i 26 przedstawiają wyniki analizy regresji dla zawartości pierwiastków w parach liście – kora, liście – owoce i kora – owoce. Wydaje mi się, że warto było zaznaczyć w podpisach tych rysunków, że przedstawiono tylko pary o istotnych statystycznie regresjach. Wartości poziomów istotności zostały ogólnie zestawione w tekście, wydaje mi się jednak, że lepszym miejscem dla nich byłyby wykresy, gdzie z powodzeniem zmieściłyby się. W tabelach 7, 9, 21 i 22 obok wartości współczynników korelacji Pearsona umieszczono – jak się wydaje – wartości współczynników determinacji r^2 , brak jednak o tym informacji w podpisach tych tabel.

Wydaje mi się wskazana w podpisach tabel i rysunków zamiana sformułowania „zawartości pierwiastków (mg/kg) w glebie *S. nigra*.” na „zawartości pierwiastków (mg/kg) w glebach stanowisk *Sambucus nigra*”. Najbardziej syntetycznej i zarazem wielostronnej informacji dostarczają diagramy ordynacji

analizy głównych składowych i klasyfikacji (PCCA). Wydaje mi się, że cennym ich uzupełnieniem byłyby tabele zestawiające wartości wektorów własnych lub/i ładunków czynnikowych zmiennych. Nie wiadomo czy będzie to możliwe w przyszłej publikacji, ale w warunkach braku ograniczeń objętości manuskryptu poszerzyłoby możliwości interpretacji danych.

Moje uwagi dotyczące przedstawienia wyników mają charakter redakcyjny, nie mam zastrzeżeń do wyboru metod analiz i prawidłowości ich przeprowadzenia. Niewątpliwą zaletą pracy jest wielość uzyskanych wyników. Są one opisywane bardzo szczegółowo, jednak zabrakło moim zdaniem próby ich syntezy i uogólniania w końcowych partiach kolejnych rozdziałów. Stwarza to pewien kłopot czytelnikowi wymagając silnej koncentracji w czasie lektury i doszukiwania się związków i prawidłowości na własną rękę.

„Dyskusja” jest najobszerniejszym rozdziałem rozprawy i obejmuje 33 strony. Jej układ nawiązuje do kolejności opisu wyników, tak więc kolejno są dyskutowane zagadnienia dotyczące właściwości fizyko-chemicznych gleb, różnych aspektów związanych z zawartościami pierwiastków w badanych częściach bzu czarnego oraz zawartości polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej w nawiązaniu do stresu chemicznego.

Autor bardzo szczegółowo dyskutuje uzyskane wyniki z licznymi pozycjami literatury. Trzeba podkreślić, że zebrane zostało bardzo szerokie spektrum źródeł literaturowych od ogólnych pozycji o podstawowym znaczeniu w rodzaju monografii Kabaty-Pendias i jej współpracowników po liczne prace oryginalne dotyczące szczegółowych kwestii ekologii skażeniowej w odniesieniu do roślin na obszarach o różnym stopniu zanieczyszczenia z wielu krajów. Zwraca uwagę umiejętność szerokiego widzenia kontekstu dyskutowanych zagadnień. Na przykład opisując specyfikę składu pierwiastkowego gleb Autor odnosi się do literatury omawiającej geologię badanych obszarów.

Przy, jak już wspomniałem, bardzo szczegółowych porównaniach uzyskanych wyników z doniesieniami literaturowymi dotyczącymi kolejnych zagadnień, w lekturze rozdziału może doskwierać niedostatek dyskusji na wyższym poziomie uogólnienia w odniesieniu do badanych zjawisk, ich interpretacji i oceny

znaczenia. Taką udaną próbą jest konfrontacja własnych wyników analizy głównych składowych i klasyfikacji (PCCA) dotyczących zawartości pierwiastków śladowych w badanych częściach *Sambucus nigra* na tle charakteru terenów gdzie usytuowane były stanowiska z doniesieniami różnych autorów prowadzących podobne badania na obszarach przemysłowych (str. 65). W tekście dyskusji zdarzają się spekulacje niepoparte lub słabo uzasadnione wynikami. Przykładem jest sugestia ze strony 52 zanieczyszczenia Wyspy Opatowickiej we Wrocławiu pyłami z huty cynku i ołowiu w Oławie. Dystans z górą 21 km pomiędzy tymi obiektami, w dodatku w poprzek kierunku przeważających wiatrów każe odnieść się ze sceptycyzmem do tej sugestii przed wykonaniem szczegółowych badań. Z przeglądu danych literaturowych wynika, że koncentracje badanych pierwiastków w glebach i próbach materiału roślinnego z terenu badań w wielu wypadkach odpowiadają tym z obszarów silnie zanieczyszczonych lub nawet je przekraczają. W licznych wypadkach Autor wykazał również przekroczenia poziomów koncentracji uznawanych za dopuszczalne. Niemniej jednak o ile uznaję za w pełni zasadne porównania terenów zanieczyszczonych i wolnych od zanieczyszczeń („wiejskich” w tej pracy) oraz płynące z nich wnioski, to z rezerwą podchodzę do pojawiających się w rozdziałach „Wyniki” i „Dyskusja” sugestii wskazań konkretnych źródeł zanieczyszczeń powodujących obecność stwierdzanych zawartości pierwiastków w roślinach. Na terenach silnie zurbanizowanych i uprzemysłowionych w rodzaju obszarów miejskich Wrocławia, Krakowa czy Ostrawy należy się liczyć z nakładaniem się wpływów z różnych źródeł emisji i dopiero szczegółowe badania w skali lokalnej, prowadzone w oparciu o gęstą sieć punktów zbioru prób pozwolą wskazać te o decydującym znaczeniu. W tym kontekście odniosłem też wrażenie, że Autor przynajmniej w kilku wypadkach zbyt wielką wagę przywiązuje do analizy korelacji. Analiza ta wskazuje istnienie bądź brak związku pomiędzy zmiennymi, pozwala ocenić jego istotność statystyczną, ale nie przesądza o przyczynach zjawisk.

Za „Dyskusją” umieszczone zostało „Podsumowanie” (str. 75-76). Rozdział streszcza najważniejsze wyniki, jednak napisany dość chaotycznie znowu wymaga od czytelnika wzmożonej koncentracji. Myślę, że byłby znacznie czytelniejszy i łatwiejszy w percepcji, gdyby treść została ujęta w rozbudowanych punktach.

Tekst rozprawy kończy zestawienie siedmiu wniosków (str.77). We wniosku pierwszym gotów jestem zgodzić się, że uzyskane wyniki uzasadniają jego pierwsze zdanie. Drugie wydaje mi się jednak ponad miarę tych wyników. W określonych miejscach na pobieranie pierwiastków mogą znacząco wpływać interakcje ze specyficznymi czynnikami siedliskowymi. W nawiązaniu do pierwszego wniosku oczekiwałbym również sformułowania oceny przydatności *Sambucus nigra* jako bioindykatora pierwiastków śladowych. We wniosku 4 Autor pisze, że „Współczynniki bioakumulacji (BF) pierwiastków z gleby do liści i kory były <1 , co może świadczyć o przeważającym udziale opadu atmosferycznego w puli pierwiastków zgromadzonych przez *S. nigra*”. Może to być jednak też rezultat sprawnego mechanizmu unikania pobierania tych pierwiastków i/lub ograniczania translokacji z korzeni do pędów, jako przejawu strategii tolerancji, o czym Autor sam wspomina na str. 67. Pozostałe wnioski nie budzą moich zastrzeżeń.

Wydaje się, że w tym miejscu należałoby się również odnieść do hipotez sformułowanych we „Wstępie”. Autor jednak pozostawił czytelnikowi ich połączenie z odpowiednimi wnioskami. Na koniec przydałoby się choć jedno zdanie zawierające uogólnioną odpowiedź na kwestię zawartą w tytule rozprawy. Jaki jest ów wpływ? W świetle uzyskanych wyników i wyciągniętych wniosków wydaje się, że jest złożony i niejednoznaczny, co dodaje urody procesowi badawczemu, a też wyznacza nowe horyzonty i pola do eksploracji.

Wskazane przeze mnie usterki i niedoskonałości w tekście rozprawy, a także uwagi i sugestie w większości dotyczą kwestii redakcyjnych. Te sięgające meritum procesu badań, interpretacji i prezentacji wyników nie mają znaczenia zasadniczego. Wszystkie wskazane niedostatki mogą być łatwo wyeliminowane w toku przygotowania materiału do publikacji w czasopiśmie naukowym, na co recenzowana rozprawa w moim przekonaniu zasługuje. Wysoko oceniam jej wartość naukową, a do jej niewątpliwych zalet i osiągnięć zaliczam:

1. Dobrze zaplanowany i spójny plan badań na rozległym terenie obejmującym rozmaite siedliska.

2. Skojarzenie dwóch wątków badań: gromadzenia pierwiastków śladowych z zawartościami związków polifenolowych oraz aktywnością antyoksydacyjną w tkankach badanych organów bzu czarnego.
3. Zgromadzenie dużej puli wyników dotyczących koncentracji badanych pierwiastków w glebach i pędach bzu czarnego oraz parametrów biochemicznych związanych z koncentracjami polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną. Tak obszerna pula wyników sprawia, że rozprawa i zapewne oparte na niej publikacje w czasopismach naukowych będą miały duże znaczenie jako materiały referencyjne w przyszłych badaniach.
4. Wykazana została przydatność pospolicie występującego gatunku w badaniach bioindykacyjnych.
5. Stworzenie solidnych podstaw do dalszych badań pogłębiających rozpoczęte wątki. Praca nie przynosi jednoznacznych wyników, jednak wyznacza przynajmniej kilka punktów początkowych do planowania nowych tematów badawczych.

W podsumowaniu stwierdzam, że mgr Mariusz Chrabąszcz wykazał się opanowaniem warsztatu naukowego w zakresie prac terenowych, laboratoryjnych i w analizie statystycznej danych oraz umiejętnością przygotowania rozbudowanego tekstu naukowego. Jego rozprawa wnosi istotny wkład do poznania zagadnień ekologii bzu czarnego na obszarach zanieczyszczonych.

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.) dlatego wnoszę o dopuszczenie pana mgr. Mariusza Chrabąszcza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

L. Żuraw