

Prof. dr hab. Halina Smal
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii
i Kształtowania Środowiska
ul. Leszczyńskiego 7
20-069 Lublin

Lublin, dn. 02.06.2020 r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr inż. Ewy Wnuk
pt. „Emisja oraz pochłanianie metanu przez gleby zanieczyszczone metalami ciężkimi
w warunkach zróżnicowanego uwilgotnienia”

Promotor: prof. dr hab. Andrzej Bieganowski
Promotor pomocniczy: dr inż. Anna Walkiewicz

Wprowadzenie

Niniejsza opinia została przygotowana w odpowiedzi na pismo Dyrektora Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN prof. dr. hab. Cezarego Sławińskiego z dnia 28.04.2020 r., w którym, w związku z uchwałą Rady Naukowej IA PAN podjętą w dniu 27.04.2020 r., zwraca się z prośbą o przygotowanie oceny pracy doktorskiej mgr inż. Ewy Wnuk wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Bieganowskiego – promotora rozprawy i dr Anny Walkiewicz – promotora pomocniczego.

Ocena problematyki badawczej

Globalne ocieplenie klimatu jest jednym z najpoważniejszych problemów dzisiejszych czasów. Uważa się, że większość ocieplenia spowodowana jest wzrostem stężenia w atmosferze gazów wywołujących efekt cieplarniany. Metan jest jednym z najważniejszych gazów cieplarnianych. Jest on emitowany do atmosfery ze źródeł naturalnych (np. mokradła i tereny podmokłe, wulkany, zbiorniki wodne) i antropogenicznych (np. rolnictwo – pola ryżowe, zwierzęta gospodarskie czy eksploatacja gazu ziemnego). Wieloletnie pomiary wskazują, że emisja CH₄ do atmosfery jest większa niż jego pochłanianie, co prowadzi do ciągłego wzrostu stężenia tego gazu w atmosferze.

W obiegu CH₄ w środowisku, szczególne miejsce zajmuje gleba. W zależności od warunków wodno-powietrznych może ona emitować lub pochłaniać metan. Pełne poznanie procesów metagenezy i metanotrofii w glebach i czynników je kształtujących jest więc niezwykle ważne w ograniczaniu efektu cieplarnianego. Wobec powyższego wysoko oceniam podjęcie przez Doktorantkę tematyki badawczej ukierunkowanej na rozpoznanie wpływu wilgotności i zanieczyszczenia gleb uprawnych metalami ciężkimi na produkcję i utlenianie metanu.

Formalna ocena rozprawy

Przedłożona do oceny praca doktorska składa się z 7 rozdziałów: 1. Wstęp, 2. Cel i hipotezy rozprawy doktorskiej, 3. Metodyka i materiały wykorzystane w cyklu publikacji, 4. Wyniki, 5. Podsumowanie i wnioski, 6. Bibliografia, 7. Teksty publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Całość uzupełnia Streszczenie w j. polskim i angielskim, Wprowadzenie oraz Oświadczenia współautorów publikacji.

Najważniejszą część stanowi rozdział 7, który jest reprintem opublikowanych w latach 2017-2020 trzech artykułów naukowych. W związku z tym podstawą rozprawy doktorskiej jest spójny tematycznie zbiór prac, opublikowanych w czasopismach naukowych zgodnie z art. 13 ust. 2 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 650 poz. 595 z późn. zm.).

W skład ocenianej rozprawy doktorskiej mgr inż. Ewy Wnuk wchodzi następujące publikacje:

1. Wnuk E., Walkiewicz A., Bieganowski A., 2017. *Methane oxidation in lead contaminated mineral soils under different moisture levels*. Environmental Science and Pollution Research. 24 (32), 25346-25354. DOI: 10.1007/s11356-0170195-8. **IF: 2,914; 35 pkt.** MNiSW.
2. Wnuk E., Walkiewicz A., Bieganowski A., 2020. *Methanogenesis and aerobic methanotrophy in arable soils contaminated with cadmium*. Catena, 189 (104480). DOI: 10.1016/j.catena.2020.10448. **IF: 3.851; 140 pkt.** MNiSW.
3. Wnuk E., Walkiewicz A., Bieganowski A., 2020. *Effect of lead and chloride ions on methane production in arable soils*. International Agrophysics, 34, 185-193. DOI: 10.31545/intagr/118096. **IF: 1.227; 70 pkt.** MNiSW.

Łączna suma punktów za publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej, według obowiązujących wykazów czasopism naukowych podawanych przez MNiSW w roku ich wydania, wynosi **245**, a sumaryczny **IF 7,992**.

We wszystkich pracach mgr Ewa Wnuk jest pierwszym, wiodącym autorem. Wkład pracy Kandydatki w ich powstanie (zgodnie z informacją własną i oświadczeniami współautorów) polegał na współdziałaniu w tworzeniu koncepcji pracy oraz określeniu zakresu planowanych doświadczeń, przygotowaniu próbek do analiz procesu metanotrofii i metanogenezy, wykonaniu pomiarów chromatograficznych, wykonaniu pomiarów pH, Eh po zakończeniu inkubacji, opracowaniu wyników w tym statystycznym, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu oraz współdziałaniu w tworzeniu jego końcowej wersji. Podkreślić zatem należy bardzo duży indywidualny wkład Pani mgr inż. Ewy Wnuk w powstanie ww. zbioru artykułów. Zaznaczyć również trzeba, że duża, międzynarodowa ranga czasopism, w których

zostały one opublikowane, świadczy o wysokim poziomie naukowym i warsztatowym Kandydatki oraz ważności podjętej tematyki.

W ocenianej rozprawie doktorskiej zamieszczono również wyniki uzyskane w przeprowadzonych badaniach, ale nie opublikowane. Dotyczą one wpływu dopuszczalnych maksymalnych dawek Pb na proces metanotrofii oraz wyników dotyczących metanogenezy w glebach zanieczyszczonych ołowiem i są uzupełnieniem danych zawartych w cyklu publikacji.

Ocena merytoryczna

Rozprawa doktorska mgr inż. Ewy Wnuk, przedstawiona w formie cyklu publikacji naukowych została opracowana na podstawie oryginalnych wyników badań laboratoryjnych (inkubacyjnych). Tytuł rozprawy doktorskiej jest poprawny, odzwierciedla jej treść i analizowane zagadnienia.

Celem głównym rozprawy było określenie wpływu metali ciężkich, tj. Pb i Cd na procesy metanotrofii oraz metanogenezy w glebach uprawnych. Przystępując do realizacji tego celu Autorka sformułowała dwie hipotezy badawcze:

1. Zanieczyszczenie gleb metalami ciężkimi powoduje inhibicję procesu metanogenezy zależną od dawki metalu.
2. Hamowanie metanotrofii rośnie wraz z dawką zanieczyszczenia oraz w warunkach zbyt dużej lub zbyt małej wilgotności gleby.

Powyższy cel realizowano w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych poprzez przeprowadzenie poprawnie zaplanowanych doświadczeń inkubacyjnych. Użyto do nich materiału glebowego z poziomu powierzchniowego (0-20 cm) trzech typów gleb uprawnych: brunatnej (*Eutric Cambisol*), biellicowej (*Haplic Podzol*) i czarnej ziemi (*Mollic Gleysol*), pochodzących z zasobów Banku Gleb Mineralnych Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie. Gleby charakteryzowały się podobnym rozkładem granulometrycznym, co zapewniało podobne warunki powietrzno-wodne przy danej wilgotności gleby. Warunki beztlenowe w badaniu procesu metanogenezy uzyskano przez całkowite zalanie próbek gleby wodą i przepłukanie przestrzeni nad powierzchnią gleby azotem. Natomiast w procesie metanotrofii próbki glebowe doprowadzono do wilgotności odpowiadającej potencjałowi wody glebowej przy pF 0; 2,2 i 3,2 każdej z gleb. Odpowiednią wilgotność gleby uzyskiwano dodając do gleb roztwory $PbCl_2$ i $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$ w 4 dawkach Pb i Cd dopuszczalnych dla gleb rolnych przyjętych wg Dziennika Urzędowego Wspólnot Europejskich, Dyrektywy Rady w sprawie

ochrony środowiska, w szczególności gleby, w przypadku wykorzystywania osadów ściekowych w rolnictwie (86/278/EWG). Były to dawki: dopuszczalne roczne oraz ich 5-krotności (Pb 4.8 mg kg⁻¹, 24 mg kg⁻¹; Cd 0.048 mg kg⁻¹, 0.24 mg kg⁻¹ s.m.) i maksymalne oraz ich 5-krotności (Pb 300 mg kg⁻¹, 1500 mg kg⁻¹; Cd 3 mg kg⁻¹, 15 mg kg⁻¹ s.m.). Takie same dawki zastosowano w badaniu procesu metanogenezy. W badaniu metanotrofii do próbek dodawano 1% CH₄ (obj.) do powietrza nad glebą. Jako kontrolę użyto gleby uwilgotnione roztworem CaCl₂ w ilości zapewniającej wilgotność i stężenie jonów Cl⁻ odpowiednie dla danego wariantu oraz H₂O w doświadczeniu z wpływem ołowiu i jonów chlorkowych na produkcję metanu (publikacja nr 3). Próbki glebowe inkubowano w temperaturze 25°C przez 21 dni (metanotrofia) oraz 180 i 160 dni (metanogeneza).

Należy podkreślić, że w badaniach zastosowano nowoczesne metody analityczne z wykorzystaniem wysoko specjalistycznej aparatury instrumentalnej. Uzyskane wyniki zostały w poszczególnych publikacjach czytelnie zaprezentowane w tabelach i na wykresach oraz przedyskutowane na tle poprawnie dobranego, bogatego i dobrze wykorzystanego piśmiennictwa. Wyniki poddano także analizie statystycznej, co podnosi ich wiarygodność i ułatwia interpretację. Bardzo wysoko oceniam dyskusję wyników. W każdym z artykułów jest ona bardzo obszerna i wnikliwa, wyjaśniająca mechanizmy utleniania i produkcji metanu w warunkach zróżnicowanej wilgotności gleby i stopnia zanieczyszczenia metalami ciężkimi. Świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki i znajomości najnowszej krajowej i światowej literatury przedmiotu. Sformułowane w poszczególnych publikacjach podsumowania bądź/i wnioski oraz ich uogólnienie w rozdziale 5. rozprawy są poprawne i stanowią odpowiedzi na postawione cele i hipotezy.

Do najważniejszych wyników uzyskanych w recenzowanej rozprawie doktorskiej zaliczam m.in. wykazanie, że:

- wszystkie badane gleby produkowały i pochłaniały CH₄,
- wilgotność gleby była silniejszym czynnikiem regulującym metanotrofię niż zanieczyszczenie gleby badanymi metalami,
- najmniej efektywne utlenianie metanu w glebach kontrolnych zachodziło przy wilgotności odpowiadającej pF 3,2. W glebie brunatnej proces ten najszybciej przebiegał przy wilgotności pF 0, w czarnej ziemi przy pF 2,2, a w glebie bielcowej CH₄ został całkowicie utleniony przy wszystkich poziomach wilgotności,
- zanieczyszczenie gleby Pb nie wpływało na aktywność metantrofów w pierwszym okresie

- (7-8 dni) po zanieczyszczeniu ołowiem. Po tym okresie zahamowanie utleniania metanu obserwowano w glebie brunatnej i w najmniej wilgotnej czarnej ziemi,
- Cd nie wpływał istotnie na produkcję metanu (z wyjątkiem 5- krotności rocznej dawki w glebie bielcowej). Zastosowanie mniejszych dawek (0,048 i 0,24 mg Cd kg⁻¹) nie miało wpływu na metanogenezę we wszystkich badanych glebach,
 - Pb wykazał większą toksyczność w porównaniu z Cd. Zarówno proces utleniania, jak i produkcji CH₄ był całkowicie hamowany przy najwyższych (300 mg kg⁻¹, 1 500 mg kg⁻¹) dopuszczalnych dawkach Pb. Kadm wpływał istotnie na spowolnienie reakcji utleniania CH₄ i nie miał wpływu na jego produkcję w dwóch (gleba brunatna i bielcowa) spośród trzech badanych gleb,
 - jony chlorkowe obniżały produkcję metanu.

Z treści pracy, interpretacji wyników, analizy literatury wynika, że Autorka włożyła bardzo dużo pracy analitycznej, naukowej, edytorskiej w powstanie cyklu publikacji naukowych. Uzyskane wyniki badań, opublikowane w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, mają duże znaczenie poznawcze, wnoszą istotne, nowe informacje do problematyki obiegu metanu w glebach uprawnych.

Podczas studiowania tej ciekawej rozprawy nasunęły mi się drobne uwagi uściślające, które z obowiązku recenzenta chciałabym przekazać Doktorantce.

1. W rozdziale 3. „Metodyka i materiały wykorzystane w cyklu publikacji” należało podać metody jakimi oznaczano właściwości gleb użytych w doświadczeniach.
2. Nie znalazłam informacji ile razy dokonywano pomiarów w doświadczeniach dotyczących metanotrofii.
3. W opracowaniu Autorka zamiennie, używa określenia „próba glebowa”, lub „próbka glebowa”. Poprawna jest druga forma.

Wniosek końcowy

Rozprawę doktorską Pani mgr inż. mgr inż. Ewy Wnuk *pt. „Emisja oraz pochłanianie metanu przez gleby zanieczyszczone metalami ciężkimi w warunkach zróżnicowanego uwilgotnienia”* oceniam wysoce pozytywnie. Rozprawa stanowi spójny cykl trzech publikacji, w których jednoznacznie wskazany został indywidualny znaczący wkład Kandydatki: w tworzeniu koncepcji pracy oraz określeniu zakresu planowanych doświadczeń, wykonaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu manuskryptu. Prace wnoszą istotne nowe treści do dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo. Sformułowane cele zostały konsekwentnie zweryfikowane i osiągnięte. Wnioski są poprawną rekapitulacją uzyskanych rezultatów.

Stwierdzam jednoznacznie i z pełnym przekonaniem, że przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku *"O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki"* (Dz.U. nr 650 poz. 595 z późn. zm.) i zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Ewy Wnuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Halina Smal