

prof. dr hab. inż. Janina Kaniuczak  
Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii  
Wydział Biologiczno-Rolniczy  
Uniwersytet Rzeszowski

## **Recenzja**

### **rozprawy doktorskiej mgr inż. Olgi Kalitowskiej pt. „Wpływ zawartości miedzi i cynku w glebie na degradację wybranych substancji czynnych herbicydów”.**

Recenzję przygotowano na zlecenie Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - PIB w Puławach prof. zw. dr hab. Jana Kusia, zgodnie z pismem RN-46/2016 z dnia 29.04.2016 r.

#### **Ogólna charakterystyka**

Rozprawa doktorska mgr inż. Olgi Kalitowskiej pt. „Wpływ zawartości miedzi i cynku w glebie na degradację wybranych substancji czynnych herbicydów” została wykonana w Zakładzie Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu, Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach. Promotorem pracy jest prof. dr hab. Mariusz Kucharski. Praca doktorska została wydana w formie zwięzłego, opracowanego maszynopisu. Zawiera 92 strony maszynopisu, w tym 22 tabele, 17 rysunków streszczenie w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia promotora pracy i autora pracy. Tekst pracy został podzielony na 7 rozdziałów: wstęp, przegląd literatury, metodyka, wyniki i dyskusja, wnioski i literatura. W większości rozdziałów wydzielono podrozdziały, co znacznie ułatwia studiowanie pracy. Układ pracy jest typowy dla rozpraw doktorskich.

#### **Tematyka pracy**

Tematyka rozprawy doktorskiej koncentruje się nad określeniem wpływu miedzi i cynku na tempo rozkładu w glebie wybranych substancji czynnych herbicydów, należących do grupy regulatorów wzrostu (inhibitory fotosyntezy, inhibitory kiełkowania). Prezentowane w pracy doktorskiej problemy badawcze mają duże znaczenie poznawcze, jak również aplikacyjne. Powszechnie wiadomo, że stosowanie herbicydów w rolnictwie pozwala ograniczyć straty plonów roślin, które wynikają z konkurencyjnego oddziaływania chwastów. Z tego powodu stosowanie środków ochrony roślin, w tym herbicydów stało się prawie nieodłącznym elementem współczesnego rolnictwa. Zabiegi związane z aplikacją herbicydów mogą być źródłem zanieczyszczenia m.in. produktów roślinnych i gleby, stąd wynika pilna potrzeba monitorowania ich pozostałości, tak w środowisku glebowym, jak i w płodach rolnych. Występowanie substancji aktywnych w glebie może mieć wpływ na uprawy następcze, a ich wymywanie obarczone jest ryzykiem skażenia wód gruntowych, powierzchniowych i głębinowych. Równocześnie wiele substancji chemicznych stosowanych obecnie w rolnictwie, czy też przenikających do agroekosystemów, stało się trwałymi i wszechobecnymi zanieczyszczeniami środowiska. Przenikanie tych substancji chemicznych do wód i żywności naraża ludzi na oddziaływanie wielu różnych związków chemicznych, które mogą wchodzić

między sobą w reakcje. Równocześnie ich wpływ na populację ludzką, jak i na całe środowisko przyrodnicze nie jest zbadany, a niekiedy skutki tego stanu można dostrzec dopiero po wielu latach, często w następnych pokoleniach. Aktualnie coraz więcej badań potwierdza wcześniejsze przypuszczenia naukowców o negatywnym wpływie środków ochrony roślin na organizmy żywe, w tym na zdrowie człowieka. Niektóre badania wskazują na znaczące statystyczne powiązania pomiędzy stosowaniem środków ochrony roślin, a wzrostem ryzyka chorób rozwojowych, chorób neurologicznych oraz niektórych rodzajów nowotworów. Dotyczy to szczególnie przypadków ekspozycji rolników na środki ochrony roślin. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), obecnie ponad 13 milionów zgonów oraz blisko ¼ chorób, spowodowana jest zanieczyszczeniami środowiska.

Obecnie coraz częściej podkreślane jest znaczenie produkcji rolniczej, która pozostanie w zgodzie ze środowiskiem naturalnym. Współcześnie wiele badań jest poświęconych modelowi rolnictwa opartego na zrównoważonym rozwoju, który ma zapewnić trwałą, zrównoważony i samopodtrzymujący się rozwój oraz poprawę życia współczesnych i przyszłych pokoleń.

W kontekście różnych, możliwych powiązań pomiędzy ksenobiotykami obecnymi w środowisku, glebowym, podjęta tematyka pracy ma nie tylko bardzo ważne znaczenie naukowe, ale wychodzi również naprzeciw potrzebom człowieka w celu zminimalizowania skutków środowiskowych z tytułu stosowania herbicydów.

### **Wartość naukowa pracy**

Rozprawa doktorska rozpoczyna się krótkim wprowadzeniem, zamieszczonym w rozdziale **Wstęp** (ponad 1,5 strony), w którym Doktorantka uzasadniła w stopniu wystarczającym istotę i znaczenie podjętych badań, akcentując przy tym osiągnięcia w tym zakresie innych autorów. Hipoteza badawcza postawiona w pracy stwierdza, że ksenobiotyki, a wśród nich metale ciężkie, mogą zmieniać właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczną gleby, co może wpływać na działanie wprowadzonych do gleby herbicydów poprzez modyfikację przebiegu i szybkości ich rozkładu. Doktorantka postawiła sobie do realizacji zasadniczo dwa cele:

- określenie wpływu miedzi i cynku na przebieg oraz tempo degradacji wybranych substancji czynnych herbicydów w glebie,
- ocenę tego wpływu w zależności od źródła zanieczyszczenia z uwzględnieniem gleb skażonych miedzią i cynkiem w warunkach laboratoryjnych i narażonych na wieloletnią emisję ze źródeł przemysłowych.

Hipoteza i cele badawcze zostały sformułowane poprawnie, w całkowicie wystarczającym stopniu kompletności.

W rozdziale **Przegląd literatury**, liczącym 26 stron maszynopisu, Doktorantka zawarła kompendium wiedzy na temat metali ciężkich w środowisku glebowym, ze szczególnym uwzględnieniem miedzi i cynku, wpływu metali ciężkich na organizmy glebowe oraz herbicydów we współczesnym rolnictwie, ich przemieszczania się i rozkładu w środowisku.

W części, metale ciężkie w środowisku glebowym, omawia szczegółowo ich źródła, drogi zanieczyszczenia, procesy jakim podlegają w glebach, czynniki wpływające na mobilność tych metali, ich fizjologiczną toksyczność dla roślin oraz ocenę stanu

zanieczyszczenia gleb ornych w Polsce w świetle obowiązujących prawnych standardów jakości gleb i ziemi. Szczegółowo przedstawia także wszechstronne i bardzo przydatne opracowanie IUNG, odnośnie zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi wraz z określeniem stopni zanieczyszczenia i możliwości wykorzystania tych gleb w produkcji roślinnej. Doktorantka nawiązuje też do najnowszych wyników badań nad stanem zanieczyszczenia gleb pierwiastkami śladowymi w przekroju regionalnym, a nawet gmin. Na tym tle prezentuje miedź i cynk w środowisku glebowym ich formy występowania, fitoprzyzwajalność i toksyczność w zależności od: odczynu gleby, potencjału redoks, składu granulometrycznego, zawartości materii organicznej i innych czynników.

W kolejnej części przeglądu literatury, Doktorantka zestawiała wyniki badań polskich i zagranicznych autorów, nad wpływem metali ciężkich na mikroorganizmy glebowe, podkreślając przy tym ich rolę w obiegu pierwiastków w przyrodzie, detoksykacji szkodliwych substancji, kontroli szkodników roślinnych i wzrostu roślin, a także w tworzeniu i zachowaniu struktury gleby. Przytacza dane z literatury, które informują o jednoznacznym wpływie metali ciężkich na aktywność enzymatyczną grzybów i bakterii. Z badań tych wynika, że w małych stężeniach metale ciężkie mogą działać stymulująco, a w dużych hamująco na ich rozwój. Dotychczasowe badania wykazały, że mikroorganizmy z obszarów długotrwale zanieczyszczonych metalami ciężkimi, posiadają znacznie wyższą tolerancję na obecność tych pierwiastków w glebie, lecz charakteryzują się mniejszą różnorodnością genetyczną i zdolnością do degradacji substratów glebowych. Autorka dysertacji przytacza mechanizmy wykształcenia tolerancji mikroorganizmów w odpowiedzi na nadmierne ilości metali ciężkich w środowisku. Zwraca przy tym uwagę na większą podatność bakterii na stress wywołany obecnością metali ciężkich w środowisku, niż grzybów. Autorka pracy wskazuje na aktywność dehydrogenaz, jako ważnego wskaźnika przydatnego w ocenie wpływu metali ciężkich, a szczególnie miedzi i cynku na aktywność mikrobiologiczną gleby.

W części przeglądu literatury, dotyczącej herbicydów we współczesnym rolnictwie, Autorka przytacza m.in. dane statystyczne, które świadczą o rosnącej tendencji zużycia środków ochrony roślin, w tym herbicydów w Polsce. Doktorantka szczegółowo charakteryzuje klasyfikację dostępnych na rynku polskim herbicydów, biorąc pod uwagę różne kryteria ich podziału. Podkreśla także, że użyte w nadmiarze stanowią zagrożenie dla środowiska naturalnego i zdrowia człowieka. Doktorantka zwraca uwagę na fakt przynależności znacznej części herbicydów, wykorzystywanych w rolnictwie do substancji szkodliwych, stąd stosowanie ich wymaga dużej wiedzy, precyzji i ostrożności.

Na uwagę zasługuje również ostatnia część przeglądu literatury, traktująca o przemieszczaniu się i rozkładzie herbicydów w glebie. Doktorantka na bazie zestawionej literatury stwierdza, w nawiązaniu do różnych sposobów aplikacji herbicydów, że znaczna ich część trafia do gleby, w której podlegają wielu procesom: rozkład przez mikroorganizmy, degradacja chemiczna i fotoliza, sorpcja przez kompleks sorpcyjny gleby, skompleksowanie w materii organicznej i minerałach ilastych, ulatnianie do atmosfery, wymywanie w głębsze warstwy gleby oraz przedostawanie się do wód powierzchniowych i podziemnych, a także pobieranie przez rośliny.

Rozkład mikrobiologiczny podawany jest w literaturze, jako główny czynnik, wpływający na degradację herbicydów w glebie, w którym biorą udział nie tylko bakterie, lecz i grzyby glebowe. Autorka pracy podkreśla, że mikroorganizmy posiadają zdolność do rozkładu

większości substancji aktywnych zawartych w środkach ochrony roślin, wykorzystując je jako źródło łatwo dostępnego węgla.

Autorka pracy w sposób wyczerpujący charakteryzuje, w oparciu o literaturę, procesy przemian substancji aktywnej herbicydów w glebie. Podkreśla przy tym, że w nielicznych przypadkach produkty rozkładu s.a. herbicydu mogą być bardziej toksyczne niż związek wyjściowy.

Autorka wskazuje m.in. na duże znaczenie sorpcji w rozpraszaniu herbicydów w glebie, ich transformacji i akumulacji oraz jako głównego czynnika redukującego mobilność herbicydów. Niektóre wyniki badań, prezentowane w literaturze przedmiotu, wskazują na kluczowe znaczenie, zarówno ilości, jak i jakości materii organicznej w glebie w wiązaniu niejonowych herbicydów. Znajomość zawartości Corg. w glebie jest konieczna do wyznaczania mobilności herbicydów w środowisku glebowym. Herbicydy, w których substancja aktywna jest związkiem anionowym, nie ulegają łączeniu z glebą, a przez to są znacznie bardziej dostępne dla roślin, za wyjątkiem jonów fosforanowych. Im wyższa koncentracja kationów metali w glebie, tym większa immobilizacja herbicydów zawierających grupy fosforanowe (np. glifosat).

Niektóre wyniki badań wskazują jak obecność niektórych metali może modyfikować sorpcję herbicydów w glebie m.in. sorpcja niektórych związków organicznych, w tym herbicydów była zredukowana w glebach zanieczyszczonych miedzią. Wilgotność gleby wpływa znacząco na sorpcję herbicydów; woda konkuruje z herbicydem o miejsce przyłączenia do cząsteczek glebowych. Dlatego stosowanie herbicydów na glebach uwilgotnionych może przyczynić się do ich strat. Wartości pH gleby wpływają na sorpcję herbicydów, poprzez wpływ na stopień ich dysocjacji, gdyż są one zazwyczaj słabymi kwasami lub zasadami.

Doktorantka podkreśla, że sposób uprawy roli wpływa także na zachowanie herbicydów w glebie np. mniejsze straty herbicydów przez wypłukiwanie i spływy powierzchniowe występują przy tradycyjnej uprawie roli niż w uprawach uproszczonych. Doktorantka omawia także sposób pobierania herbicydu przez roślinę, uzależniając to od formy aplikacji preparatu i jego właściwości fizykochemicznych, fazy rozwojowej rośliny, jak i biologii i morfologii zwalczanej rośliny. Przedstawia także sposoby kontaktu herbicydu z rośliną w zależności od rodzaju aplikacji herbicydów (doglebowe, nalistne). Omawia czynniki wpływające na sposób oraz tempo pobierania i transportu herbicydu w roślinie, do których zalicza warunki klimatyczne, zaopatrzenie rośliny w wodę, wielkość kropli fazy opryskowej oraz faza rozwojowa zwalczanej rośliny. Szybkość degradacji herbicydu ocenia się m.in. za pomocą wartości DT50, czyli czasu połowicznego rozkładu, który określany jest do każdego rodzaju herbicydu. Jak słusznie podkreśla Doktorantka jest to tylko orientacyjny czas zalegania herbicydu w glebie, gdyż realne tempo jego rozkładu modyfikowane jest przez szereg nakładających się na siebie czynników biotycznych i abiotycznych.

Doktorantka omawia również zakres i treść Ustawy o Środkach Ochrony Roślin z dnia 8 marca 2013 roku, którą należy bezwzględnie przestrzegać i postępować zgodnie z jej wytycznymi. Zasady stosowania środków ochrony roślin określa Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 31 marca 2014 roku w sprawie warunków stosowania środków ochrony roślin.

Zakres i układ tej części pracy nie budzi zastrzeżeń. Treści zawarte w tym rozdziale stanowią bogaty materiał, który po uporządkowaniu może być wykorzystany do publikacji przeglądowej. Nieliczne usterki, które zauważono w tej części pracy, to cytowanie kilku pozycji

literatury niezamieszczonych w rozdziale Literatura. Występuje to na stronach: 10, 11, 12, 14, 21, 22, 23. Na stronie 21 w. 11 od dołu, brak odniesienia literatury do tej postaci jonów i str. 33 w. 9 od dołu, brak dokończenia myśli oraz nieliczne literówki znalezione w tekście.

Rozdział **Metodyka** (17 stron), zawiera opisy doświadczeń modelowych, prowadzonych w ściśle kontrolowanych warunkach, tj. w fitotronach, co miało wyeliminować działanie czynników środowiskowych, wpływających na rozkład badanych substancji. Pozwoliło to uzależnić tempo degradacji herbicydów, głównie od obecności miedzi i cynku. Doświadczenie przeprowadzono na czterech glebach, do którego materiał pobrano z warstwy ornej (0-20 cm), przy czym dwie z tych gleb pochodziły z obszarów objętych wpływem Huty Miedzi Legnica. Były to gleby pobrane z miejscowości Ceber: GS1 (piasek gliniasty) i miejscowości Żukowice: GS2 (pył gliniasty), które charakteryzowały się podwyższoną zawartością miedzi i cynku. Dwie kolejne gleby pochodziły z pól uprawnych z okolic Wrocławia tj. Laskowic: GN1 (piasek gliniasty) z Okulic: GN2 (pył gliniasty). Gleby te były dobrane pod względem ich właściwości fizykochemicznych tak, aby GN1-GS1; GN2-GS2 były najbardziej zbliżone. Gleby, pochodzące spoza stref zanieczyszczeń Cu i Zn, skażono wodnymi roztworami soli cynku i miedzi w dawkach odpowiadających I<sup>0</sup> zanieczyszczenia-Zn i IV<sup>0</sup> zanieczyszczenia-Cu (wg IUNG-PIB, Kabata-Pendias et al. 1993). Oznaczono wybrane właściwości: skład granulometryczny, maksymalną pojemność wodną, pH w KCL, C org, przyswajalne formy Cu i Zn, gleb użytych w doświadczeniu przed ich skażeniem i po skażeniu (Cu i Zn). Analizy wykonano standardowymi metodami stosowanymi w badaniach chemiczno-rolniczych. W doświadczeniach badano pozostałości trzech herbicydów: chlorotoluronu (inhibitor fotosyntezy), metazachloru (inhibitor kiełkowania) i bromoksynilu (inhibitor fotosyntezy), które szczegółowo scharakteryzowano pod względem chemicznym. Chlorotoluron aplikowano na glebę w formie herbicydu Lentipur Flo 500 S.C. w dawce 2,5 l/ha, metazachlor-w formie herbicydu Butisan 400 S.C. w dawce 2.5 l/ha, a bromoksynil aplikowano w formie herbicydu Emblem 20 WP w dawce 2 kg/ha. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch seriach i trzech powtórzeniach, po 10 obiektów z każdym herbicydem. Opisano szczegółowo sposób aplikacji herbicydów i warunki panujące w fitotronach.

Próbki gleb do oznaczania pozostałości herbicydów pobierano w przyjętych odstępach czasu; najpierw oznaczono stężenie początkowe s.a., a kolejne próbki pobrano w siedmiu terminach tj. od 2 do 64 dni, po aplikacji herbicydu.

Próbki do analiz pozostałości herbicydów przygotowano zgodnie z procedurami analitycznymi. Procedury do oznaczenia pozostałości herbicydów były wysoce specjalistyczne z zastosowaniem nowoczesnej aparatury badawczej i warto podkreślić wymagały dużych umiejętności Doktorantki. Ekstrakcję próbek gleby w celu oznaczenia pozostałości badanych herbicydów przeprowadzono na aparacie Dionex 350 AS. Pozostałości metazachloru i bromoksynilu oznaczono na chromatografie gazowym, chlorotoluronu – metodą chromatografii cieczowej HPLC. Przedstawiono graficznie warunki chromatografii oraz przykładowe chromatogramy dla wybranych gleb i herbicydów. Metody analityczne zwalidowano zgodnie z obowiązującymi wymogami. W części badanych gleb oznaczono aktywność mikrobiologiczną według przyjętych metod analitycznych. Jako miarę aktywności mikrobiologicznej przyjęto produkcję enzymu dehydrogenazy, który oznaczono kolorymetrycznie.

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji w układzie bloków losowanych. Istotność różnic testowano przy pomocy przedziału ufności Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ . Obliczeń statystycznych dokonano w programie ARM8 (Gilling Data Management Inc., South Dakota, USA). W rozdziale tym opisano przejrzyście i wyczerpująco warunki prowadzenia doświadczeń modelowych, procedury analityczne: gleby, pozostałości herbicydów, aktywności mikrobiologicznej gleby i aparaturę badawczą oraz stosowane metody statystyczne.

W rozdział **Wyniki badań i dyskusja** (23 strony), Doktorantka przedstawiła wyniki badań własnych, które konfrontuje z badaniami innych autorów. Jest to dość obszerny rozdział, podzielony na dziewięć podrozdziałów I i II rzędu, w których zestawiała kolejno wyniki badań, grupując je według substancji aktywnej herbicydów. Były to następujące podrozdziały: rozkład metazachloru; rozkład metazachloru w glebach GN1 i GS1, rozkład metazachloru w glebach GN2 i GS2, rozkład chlorotoluronu; rozkład chlorotoluronu w glebach GN1 i GS1, rozkład chlorotoluronu w glebach GN2 i GS2, rozkład bromoksynilu; rozkład bromoksynilu w glebach GN1 i GS1, rozkład bromoksynilu w glebach GN2 i GS2. Autorka w kolejnych podrozdziałach dokonała analizy rozkładu metazachloru, chlorotoluronu i bromoksynilu, przedstawiając graficznie dynamikę zawartości tych herbicydów, pozostających w glebie, po upływie przyjętych czasów, od aplikacji dogłębowej. Wyniki badań przedstawiła także w formie tabel ze statystycznym porównaniem efektów rozkładu badanych herbicydów wraz z miarami zmienności: średnia, błąd standardowy, współczynnik zmienności oraz NIR, na wymaganym poziomie istotności w badaniach rolniczych i kurtozę. Doktorantka stwierdziła, że obecność miedzi i cynku w glebach piaszczystych, niezależnie od ich źródła pochodzenia, przyspiesza rozkład metazachloru. Największy wpływ na przyspieszenie rozkładu metazachloru stwierdzono w glebach piaszczystych, w których występowały łącznie miedź i cynk, bez względu na źródło ich pochodzenia. W glebach cięższych o składzie granulometrycznym pyłu gliniastego, bogatszych w substancję organiczną, nie obserwowano większego wpływu miedzi i cynku na przebieg rozkładu metazachloru. Obecność miedzi i cynku w tych glebach, niezależnie od źródła występowania, tylko w nieznacznym stopniu spowodowała rozkład metazachloru. Brak było także w tej glebie ich istotnego wpływu na przebieg, i wartości czasu połowicznego rozkładu.

Niezwykle ważne badania przeprowadzone przez Doktorantkę, to aktywność mikrobiologiczna gleby, mierzona ilością produkowanych dehydrogenaz w warunkach aplikacji metazachloru. Wykazano, że wprowadzenie do gleby ksenobiotyków spowodowało w początkowym okresie obniżenie aktywności mikrobiologicznej, która w krótkim czasie (6-8 dni), powracała do stanu pierwotnego. Najmniejszym wpływem na produkcję dehydrogenaz charakteryzował się metazachlor aplikowany na glebę z miedzią. Wprowadzenie do tej gleby metazachloru z cynkiem powodowało relatywnie długie zahamowanie aktywności mikroorganizmów. Chlorotoluron wykazywał także zróżnicowanie rozkładu na glebie piaszczystej w zależności od obecności miedzi i cynku. Obecność metali, podobnie jak w przypadku metazachloru sprawiła, że chlorotoluron staje się bardziej dostępny dla mikroorganizmów, co przyspieszało jego rozkład. Obecność w glebie miedzi i cynku intensyfikowała tempo degradacji chlorotoluronu, jednak dokładny mechanizm tego procesu jest nieznan. W glebie pyłowej nieskażonej miedzią i cynkiem rozłożyło się mniej wyjściowej dawki chlorotoluronu, niż z dodatkiem Cu lub Zn, a najwięcej w glebach skażonych łącznie Cu

i Zn, wówczas pozostałość tego herbicydu w glebie stanowiła tylko 15%. Aplikacja chlorotoluronu do gleby cięższej bez dodatku Cu i Zn, tylko w nieznacznym stopniu spowolniała aktywność mikrobiologiczną, lecz było to działanie długotrwałe. Obecność miedzi, cynku czy mieszaniny tych dwóch metali powodowała nagłe zahamowanie produkcji dehydrogenaz, lecz po około 10 dniach aktywność mikrobiologiczna wracała do stanu wyjściowego. Zmniejszenie aktywności mikrobiologicznej częściowo pokrywa się z działaniem metazachloru. Wyniki badań z doświadczenia modelowego potwierdzają nietrwałość bromoksynilu w glebie piaszczystej. Jego szybki rozkład następuje już w pierwszych 8-10 dniach od jego aplikacji. Obecność miedzi i cynku, w niewielkim stopniu spowalniała ten proces. Rozkład tego herbicydu jest dłuższy w glebach ciężkich niż w lżejszych. Obecność metali (Cu, Zn) w glebie cięższej nie miała wpływu na rozkład tego herbicydu. Herbicyd ten jest łatwo rozkładany przez mikroorganizmy, za pośrednictwem enzymów przez nie produkowanych. Obecność bromoksynilu w glebach lekkich nie miała większego wpływu na czas połowicznego rozpadu, ale modyfikowała ilość pozostałości w glebie. W glebach cięższych, o większej zawartości materii organicznej, bardziej był zauważalny wpływ Cu i Zn na dynamikę jego rozkładu, ale to nie wpłynęło na wartość DT50 i wielkość pozostałości w glebie.

Niewątpliwym osiągnięciem Doktorantki jest oznaczenie aktywności mikrobiologicznej gleby, mierzonej ilością produkowanych dehydrogenaz, w warunkach aplikacji badanych herbicydów i ich rozkładu w wyznaczonych przedziałach czasowych, po skażeniu gleb miedzią lub cynkiem albo łącznie tymi pierwiastkami w zależności od pochodzenia tych metali. Interpretacja tych zależności jest przeprowadzona poprawnie i ze zrozumieniem. Porównania statystyczne grup jednorodnych rozkładu badanych herbicydów w glebie piaszczystej i pyłowej w wyznaczonych przedziałach czasowych, były również wielkim naukowym wyzwaniem dla Doktorantki. Równanie krzywych rozkładu badanych herbicydów w glebach piaszczystych i pyłowych, zanieczyszczonych metalami, obliczone współczynniki korelacji ( $R^2$ ) oraz empirycznie wyznaczone z równania czasu połowicznego rozkładu herbicydów w glebie, świadczą o wszechstronnym matematyczno-statystycznym opracowaniu wyników badań. Dowodzą również, że Doktorantka opanowała nie tylko metodologię prowadzenia ścisłych doświadczeń z tej problematyki badawczej, ale także specjalistyczną analitykę i aparaturę oraz nowoczesne metody statystyczne zastosowane w opracowaniu wyników badań. W tabeli 12, powinny być zamieszczone informacje dotyczące znaczenia liter a, b, c, co ułatwiło by czytelnikowi sprawne śledzenie statystycznych różnic, a w pozostałych tabelach odnieść się do objaśnień pod tabelą 12.

Zakończeniem części merytorycznej pracy doktorskiej są **Wnioski**, będące odpowiedzią na sformułowaną wcześniej hipotezę badawczą i postawione cele. Doktorantka sformułowała 12 wniosków, wynikających bezpośrednio z przeprowadzonej analizy i są w pełni udokumentowane uzyskanymi wynikami badań. Pierwszy wniosek ma charakter ogólny, informuje o obecności w glebie miedzi i cynku i ich wpływie na modyfikację rozkładu badanych herbicydów. Wnioski od 2 do 10, odnoszą się do szczegółowych uogólnień, dotyczących dodatków miedzi i cynku oraz ich wpływu na rozkład metazachloru, chlorotoluronu i bromoksynilu z równoczesną charakterystyką czasów połowicznego rozkładu, wyznaczonych empirycznie lub wyliczanych z równań w odniesieniu do gleby piaszczystej i pyłowej. Wniosek 11 dotyczy wpływu, aplikowanych doglebowo herbicydów, na aktywność mikrobiologiczną gleby; a w szczególności na jej krótkotrwałe zmniejszenie, trwające około 7

dni, po czym aktywność wzrastała do poziomu zbliżonego do pierwotnego. Wniosek 12 wskazuje na potrzebę dalszych badań dla każdego układu gleba-herbicyd, gdyż różnorodność ich budowy chemicznej i szlaków metabolicznych herbicydów, uniemożliwia stworzenie jednego modelu zanikania tych substancji w glebach zanieczyszczonych miedzią i cynkiem.

W rozdziale **Literatura**, Doktorantka zamieściła 123 pozycje literatury polskiej i obcojęzycznej, w tym 95 pozycji w języku angielskim. Głównie są to czasopisma naukowe, ale i pozycje książkowe, ustawy, źródła internetowe. W zdecydowanej większości reprezentowane są najnowsze osiągnięcia naukowe, wydane najczęściej po 2000 roku. Doktorantka poprawnie i z wielką starannością zestawiała literaturę, która odnosi się do problemów naukowych realizowanych w pracy. Literatura jest właściwie wykorzystana oraz cytowana (poza kilkoma brakującymi pozycjami w spisie literatury). Doktorantka musiała wykazać się ogromnym zaangażowaniem i skrupulatnością w gromadzeniu tak dużej liczby pozycji anglojęzycznych, jej uporządkowaniem, opracowaniem i zredagowaniem.

### **Opracowanie redakcyjne**

Praca jest przygotowana starannie i zawiera logiczny układ rozdziałów. Zastosowana terminologia w pracy jest poprawna, a informacje zawarte w zestawieniach wyników badań są kompletne. Czytelnik może w pełni kontrolować zgodność opisów, formułowanych wniosków z wynikami badań, zaprezentowanych na wykresach i tabelach. Opracowanie pracy umożliwia czytelnikowi zgromadzenie skompensowanej wiedzy w zakresie przemian w czasie wybranych herbicydów w glebie w warunkach skażenia miedzią i cynkiem. Niezwykle ważne było badanie w tych warunkach wpływu herbicydów na aktywność mikrobiologiczną gleby, tj. istotną właściwość w obrębie czynników kształtujących żyzność gleby. Nieliczne usterki (zaznaczone wcześniej), występujące w pracy nie obniżają wartości merytorycznej.

### **Wniosek końcowy**

W recenzowanej rozprawie doktorskiej Doktorantka uzyskała nowe i interesujące wyniki o dużym znaczeniu naukowym i aplikacyjnym. Do najważniejszych z nich należy zaliczyć:

- analizę statystyczną pomiaru pozostałości badanych herbicydów w glebach po różnym czasie od ich aplikacji, w zależności od zanieczyszczenia miedzią i cynkiem,
- empiryczne i matematyczne wyznaczenie szybkości rozkładu herbicydów w badanych glebach na podstawie wskaźnika DT50,
- określenie dynamiki aktywności mikrobiologicznej gleby, na podstawie aktywności dehydrogenaz, ukształtowanej po aplikacji ksenobiotyków (herbicydów, miedzi i cynku),
- ustalenie czasu zmniejszenia aktywności mikrobiologicznej gleby, po aplikacji badanych ksenobiotyków i jej powrotu do pierwotnego stanu.

Stosując wyspecjalizowane i wysoce zaangażowane metody pomiaru, Doktorantka wykazała się bogatą wiedzą i doświadczeniem w badaniach laboratoryjnych. Zdobyła także umiejętności w zakładaniu i prowadzeniu ścisłych doświadczeń, co jest niezwykle ważne w dalszej pracy naukowo-badawczej. Posiadając duży materiał badawczy, umiejętnie dokonała

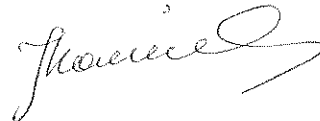


jego selekcji, uporządkowania, a następnie poddała analizie i opracowaniu naukowemu. Dociekliwość naukowa, precyzja w opisie i interpretacji wyników badań promują Doktorantkę, jako zdolnego i dobrze zapowiadającego się naukowca.

Reasumując stwierdzam, że recenzowana praca doktorska Pani mgr inż. Olgi Kalitowskiej, w pełni spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim, zawarte w Ustawie z dnia 14 marca 2013 roku „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. Nr 65 z 2003 r. poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz zawiera się w dyscyplinie agronomii.

Dlatego stawiam wniosek Wysokiej Radzie Naukowej IUNG-PIB w Puławach, o dopuszczenie Pani mgr inż. Olgi Kalitowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę aktualność realizowanych badań, wysoki poziom merytoryczny oraz ich aplikacyjny charakter, wnoszę o wyróżnienie mgr inż. Olgi Kalitowskiej stosowną nagrodą.

Rzeszów, 7.06.2016 r.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Kowalski' with a stylized flourish at the end.