

Kraków, 21 sierpnia 2019

Prof. dr hab. Marcin Rapacz  
Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i Nasiennictwa  
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny  
Uniwersytet Rolniczy *im. Hugona Kołłątaja* w Krakowie  
ul. Podłużna 3, 30-239 Kraków

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Szymona Rusinowskiego pt. „Wydajność i aktywność fotosyntezy roślin energetycznych uprawianych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi”**

Rozprawa doktorska Pana Szymona Rusinowskiego obejmuje ważne globalnie zagadnienie jakim jest zanieczyszczenie gleb metalami ciężkimi. Obecne w środowisku metale ciężkie są czynnikiem powodującym stres u roślin. Stres ten może bezpośrednio lub pośrednio wpływać na proces fotosyntezy ograniczając produktywność (plon) roślin. Jony metali ciężkich po przedostaniu się do łańcucha żywieniowego oddziałują też szkodliwie na organizmy zwierząt i ludzi. Wiadomo też, że przy zastosowaniu odpowiednich technologii uprawa roślin energetycznych może przyczynić się do ograniczenia problemu zanieczyszczonych gleb.

Jako rozprawa przedłożone zostały trzy artykuły naukowe opublikowane w języku angielskim. Dołączono też ich obszernie, liczące aż 64 strony omówienie w języku polskim. Omówienie to jest więc obszerniejsze od typowego autoreferatu omawiającego osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym. Co również warto podkreślić opracowanie to jest niezwykle starannie przygotowane, zawiera materiał ilustracyjny oraz cytuje 169 pozycji literatury — artykułów naukowych, aktów prawnych i dokumentów roboczych Komisji Europejskiej. Świadczy to o kompleksowej wiedzy doktoranta dotyczącej problemu zanieczyszczenia gleb i żywności metalami ciężkimi.

Celem pracy pana Rusinowskiego była ocena aktywności i wydajności fotosyntezy u traw prowadzących fotosyntetyczny metabolizm węgla według mechanizmu C4 podczas uprawy na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Zaprezentowano wyniki eksperymentu wazonowego przeprowadzonego na kukurydzy oraz dwóch eksperymentów polowych, gdzie badane były *Miscanthus x giganteus*, *Panicum virgatum*, *Spartina pectinata* oraz dwa nasienne mieszańce miskanta *M. sacchariflorus x M. sinensis*. We wszystkich eksperymentach ocenę

wydajności i aktywności fotosyntetycznej przeprowadzono z pomocą pomiarów wymiany gazowej, pomiarów fluorescencji chlorofilu oraz zawartości barwników. Szacowano też parametry wzrostowe roślin oraz zawartość metali ciężkich w glebie i biomase roślin.

W skład rozprawy weszły następujące artykuły naukowe:

1. Szymon Rusinowski, Alicja Szada-Borzyszkowska, Paulina Zieleźnik-Rusinowska, Eugeniusz Małkowski, Jacek Krzyżak, Gabriela Woźniak, Krzysztof Sitko, Michał Szopiński, Jon Paul McCalmont, Hazem M. Kalaji, Marta Pogrzeba 2019. How autochthonous microorganisms influence physiological status of *Zea mays* L. cultivated on heavy metal contaminated soils? *Environmental Science And Pollution Research* 26: 4746-4763. Praca opublikowana w lutym 2019, 5-letni IF = 3,208 (Q2).
2. Szymon Rusinowski, Jacek Krzyżak, Krzysztof Sitko, Hazem M. Kalaji, Elaine Jensen, Marta Pogrzeba 2019. Cultivation of C4 perennial energy grasses on heavy metal contaminated arable land: Impact on soil, biomass, and photosynthetic traits. *Environmental Pollution* 250: 300-311. Praca opublikowana w lipcu 2019, 5-letni IF = 6.152 (Q1).
3. Szymon Rusinowski, Jacek Krzyżak, John Clifton-Brown, Elaine Jensen, Michał MOS, Richard Webster, Krzysztof Sitko, Marta Pogrzeba 2019. New *Miscanthus* hybrids cultivated at a Polish metal-contaminated site demonstrate high stomatal regulation and reduced shoot Pb and Cd concentrations, *Environmental Pollution*, 252, Part B, 1377-1387. Praca opublikowana we wrześniu 2019, 5-letni IF = 6.152 (Q1).

Artykuły ukazały się więc w najlepszych czasopismach publikujących artykuły zbliżone tematycznie do tematyki rozprawy. Udział doktoranta w pracy nad artykułami których jest pierwszym autorem był znaczący i obejmował wszystkie etapy pracy począwszy od projektowania doświadczeń do prac redakcyjnych, co potwierdzone zostało stosownymi oświadczeniami doktoranta i współautorów. Trzeba też nadmienić, że prace powstały w interdyscyplinarnych zespołach pracowników wielu instytucji, w tym zagranicznych, a w gronie współautorów znalazły się osoby będące światowej klasy naukowcami w swojej dziedzinie, jak prof. John Clifton-Brown, czy dr Elaine Jensen.

Celem pracy numer 1 było zbadanie wpływu mikroorganizmów autochtonicznych obecnych w glebach o różnych poziomach zawartości metali ciężkich na skład chemiczny, stan fizjologiczny i parametry wzrostu kukurydzy. Dokonano porównania roślin rosnących na glebie sterylizowanej i niesterylizowanej. Po 45 dniach uprawy obecność metali ciężkich w glebie wpłynęła negatywnie na fotosyntezę i transpirację, względną zawartość chlorofilu,

indeks antocyjanów, parametry fluorescencji chlorofilu oraz zwiększyła zawartość produktów stresu oksydacyjnego ( $H_2O_2$  i dialdehyd malonowy). Wynik ten jest oczywisty, natomiast co ciekawe okazało się, że powyższe, negatywne efekty zostały częściowo zniwelowane poprzez sterylizację gleby, chociaż w jej wyniku obserwowano wzrost stężenia jonów metali ciężkich (zwłaszcza Cd i Zn) w pędach. Dodatkowo biomasa nadziemna kukurydzy uprawianej na glebie sterylizowanej była, w zależności od poziomu zanieczyszczenia, od 1,5 do 3 (najniższy poziom) razy wyższa w porównaniu z glebami niesterylizowanymi. Stwierdzono również, że średni udział procentowy kolonizacji segmentów korzeni przez grzyby mikoryzy arbuskularnej zmniejszał się wraz ze wzrostem skażenia gleby metalami ciężkimi. Wyniki tej pracy wskazują więc na bardzo złożoną i częściowo zaskakującą zależność pomiędzy mikroflorą glebową a stresem wywoływanym u roślin przez obecne w glebie metale ciężkie. Przy okazji nasuwa się pytanie, czy aby na pewno najniższy poziom zawartości metali ciężkich w glebie zastosowany w tej pracy można nazwać glebą nieskażoną (Pb 59, Cd 0,4, Zn 191  $mg\ kg^{-1}$ ). Oczywiście był on niższy od dwóch pozostałych poziomów, ale ilości Pb i Zn nie można nazwać śladowymi. Np. naturalna zawartość cynku w glebie to maksimum 125  $mg\ kg^{-1}$ , ale już powyżej 100 powoduje on problemy, np. ograniczając proces nityfikacji, czy negatywnie oddziałując na rośliny.

W pracy 2 celem była ocena potencjału trzech gatunków traw wieloletnich C4 (*Miscanthus x giganteus*, *Panicum virgatum* i *Spartina pectinata*) do produkcji biomasy na gruntach ornych nienadających się do produkcji żywności i pasz z powodu zanieczyszczenia Pb, Cd i Zn. Oceniono właściwości gleby, plon biomasy, stężenie metali i wydajność fotosyntetyczną każdego z gatunków. Analizy fizykochemiczne i elementarne wykonano na próbkach gleby przed założeniem plantacji (2014) i po trzech latach uprawy (2016), kiedy to określono również wskaźnik powierzchni liści, wysokość roślin, plon i zawartość metali ciężkich w biomacie. W ostatnim roku doświadczenia od czerwca do września wykonano w odstępach miesięcznych pomiary fizjologiczne (wymiana gazowa, zawartość barwników, fluorescencja chlorofilu *a*). Wykazano, że uprawa badanych roślin powoduje w glebie wzrost pH, zawartości azotu a dla *S. pectinata* również materii organicznej. Okazało się, że wartości maksymalnej wydajności kwantowej pierwotnych procesów fotochemicznych ( $F_v/F_m$ ) i wartości parametrów wymiany gazowej były zgodne z obserwowanymi w literaturze u badanych gatunków w warunkach optymalnych. Nie obserwowano więc stresu fizjologicznego wywołanego przez zanieczyszczenie gleby. Uprawa w warunkach eksperymentu nie obniżyła też plonu biomasy, z wyjątkiem *P. virgatum*, prawdopodobnie z powodu niesprzyjających warunków klimatycznych, ale być może również wyższego, w

porównaniu z innymi gatunkami, pobierania jonów metali ciężkich. Wyniki pracy wskazały, że uprawa *M. x giganteus* i *S. pectinata* stanowią mogą alternatywę dla obszarów, gdzie produkcja żywności jest niemożliwa z powodu silnego zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi.

W pracy 3 kontynuowano tematykę związaną z wykorzystaniem gruntów nienadających się do produkcji żywności do produkcji biomasy w celach energetycznych. Uwagę zwrócono tu na scharakteryzowanie dwóch nowych mieszańców miskanta *M. sacchariflorus* x *M. sinensis* GNT<sub>41</sub> i GNT<sub>34</sub>, w porównaniu z miskantem olbrzymim (*M. x giganteus*) podczas uprawy na gruntach ornych zanieczyszczonych metalami. W pracy oceniono plon i jakość biomasy oraz scharakteryzowano różnice w parametrach fotosyntetycznych i transpiracji. W pracy podjęto też próbę identyfikacji mechanizmów fizjologicznych leżących u podstaw odmiennego stopnia akumulacji jonów metali u badanych roślin. Wykazano, że nowe mieszańce plonują na poziomie *M. x giganteus*, jednak charakteryzują się krótszymi pędami, wyższym indeksem powierzchni liści i większą liczbą łodyg. Na podstawie pomiarów wymiany gazowej stwierdzono, że GNT<sub>34</sub> wykazuje zachowanie izohdyczne (silnie zatrzymuje wodę w tkankach). Stwierdzono, że reakcja szparek na światło jest u nowych hybryd co najmniej dwa razy szybsza niż u *M. x giganteus*, co wiąże się zwykle ze zwiększoną wydajnością wykorzystania wody w sezonie wegetacyjnym (a więc wyższą tolerancją suszy). To ograniczenie przepływu wody przez roślinę mogło przyczynić się do prawie 40% redukcji stężeń Pb i Cd w pędach mieszańców w porównaniu do *M. x giganteus*. Zdaniem doktoranta wynika stąd, że selekcja mieszańców miskanta w kierunku promowania szybszej reakcji aparatów szparkowych w połączeniu z większymi zdolnościami do zatrzymywania wody w liściach może być użyteczna dla szerszego ich wykorzystania na terenach zanieczyszczonych metalami. Wydaje mi się, że jest to zbyt wąskie zawężenie praktycznej aplikacji wyników tej pracy. Celowa może okazać się też selekcja w kierunku przeciwnym. W tym miejscu poprosiłbym doktoranta o refleksję.

Za najważniejsze osiągnięcia przedstawione w rozprawie uznać należy:

1. Wykazanie, że niektóre spośród badanych gatunków traw C<sub>4</sub> uprawianych na cele energetyczne są dobrą alternatywą dla produkcji żywności na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi ze względu na zachowywanie przez nie wydajności oraz aktywności fotosyntetycznej, a tym samym potencjału produkcji biomasy na terenach umiarkowanie zanieczyszczonych.

2. Wskazanie potencjalnej możliwości wykorzystania hodowli nowych mieszańców miskanta pod kątem odporności na suszę dla ich uprawy na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

**Podsumowując, rozprawa doktorska Pana Szymona Rusinowskiego stanowi samodzielne rozwiązanie problemu badawczego przy użyciu adekwatnej metodyki badań, co jest ustawowym wymaganiem stawianym rozprawom doktorskim.**

Biorąc pod uwagę wszystkie aspekty przedstawionej mi do recenzji rozprawy stwierdzam, iż spełnia ona kryteria stawiane w Artykule 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pana mgr Szymona Rusinowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego w celu nadania stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dyscyplinie agronomii.

Dodatkowo ze względu na wysoką wartość merytoryczną rozprawy, potwierdzoną jej opublikowaniem w bardzo dobrych czasopismach naukowych **wnoszę o wyróżnienie rozprawy Pana mgr Szymona Rusinowskiego nagrodą.**

  
Prof. dr hab. Marcin Rapacz