prof. dr hab. Grażyna B. Dabrowska
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
Instytut Biologii, Katedra Genetyki
e-mail: browsk@umk.pl
tel. (56) 61-12-636

Toruń, 17.09.2026 r.

RECENZJA

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. Jana Kamińskiego,
pt. „**Reakcje fizjologiczno-biochemiczne roślin na zanieczyszczenia środowiska naturalnego związkami fluoru**",
praca doktorska wykonana pod kierunkiem
prof. dr hab. Agnieszki I. Piotrowicz-Cieślak i **dr Alicji Stachelskiej-Wierzchowskiej**
w Katedrze Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin Wydziału Biologii i Biotechnologii oraz w Katedrze Fizyki i Biofizyki, Wydziału Nauk o Żywności, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

1. Znaczenie podjętego tematu

Pomimo prowadzonych od dekad badań nad poznaniem mechanizmów umożliwiających wzrost i rozwój roślin w stale zmieniających się warunkach środowiskowych, to nadal obecna wiedza nie jest wystarczająca do ich pełnego zrozumienia. Szczególnie istotne są reakcje roślin na pojawiające się w środowisku zanieczyszczenia pochodzenia antropogenicznego. Pan magister Jan Kamiński w swojej pracy doktorskiej badał zagadnienia dotyczące reakcji roślin na obecność zanieczyszczeń związkami fluoru takimi jak, antybiotyki z grupy fluorochinolonów, ciprofloksacyna i pefloksacyna czy jony fluorkowe. Doktorant w badaniach wykorzystał dwa gatunki roślin, rzęsę drobną (*Lemna minor* L.) i rukolę (*Eruca sativa* L.).

Celem badań było wyjaśnienie ekologicznych i epidemiologicznych konsekwencji zanieczyszczenia środowiska związkami fluoru oraz eksperymentalna weryfikacja hipotezy zakładającej degradację chlorofilu indukowaną obecnością tychże związków fluoru. Przedstawione w dysertacji wyniki badań mają bardzo duże znaczenie dla rozwoju wiedzy podstawowej i wskazują na możliwość ich praktycznego zastosowania.

2. Strona formalna

Pracę doktorską stanowią dwa powiązane tematycznie artykuły naukowe opublikowane, jeden w 2024, drugi w 2026 roku. Artykuły naukowe opublikowano w czasopismach o wysokiej wartości

Impact Factor (IF), *Molecules* IF 4,6 i *International Journal of Molecular Sciences* IF 5,6, co stanowi łączny IF 10,2 i łącznej liczbie punktów MNiSW 280. Kopie tych prac spięto w formie zeszytu, w której zamieszczono dodatkowo: Stronę tytułową, Spis treści, Wykaz oryginalnych prac będących przedmiotem rozprawy doktorskiej, Wykaz oryginalnych prac niebędących przedmiotem rozprawy doktorskiej, Wykaz udziału w konferencjach naukowych, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Stan wiedzy i uzasadnienie badań (rozdział obejmujący 4 strony), Cel pracy, Materiały i metody (2 strony), Wyniki i dyskusja (6 stron), Wnioski (1 strona) i Bibliografia (145 pozycji). Rozdziały stanowiące uzupełnienie informacji zawartych w kopiach publikacji zostały napisane poprawnym i zrozumiałym językiem. Doktorant ponadto jest współautorem dwóch artykułów naukowych nie wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, a wyniki swoich badań prezentował na jednej konferencji naukowej.

3. Charakterystyka pracy i uzyskanych wyników

3.1 Ogólna ocena wiedzy teoretycznej Doktoranta

Rozdział Stan wiedzy i uzasadnienie badań, dołączony do kopii publikacji stanowi wartościowy merytoryczny, choć, moim zdaniem dość skrótowo ujęty, rozdział który porządkuje wiedzę teoretyczną stanowiącą tło prowadzonych badań, jest także punktem wyjścia podjętej pracy badawczej. Stanowi oparte o literaturę przedstawienie problematyki dysertacji, konieczne dla uzasadnienia podejmowanych ścieżek eksperymentalnych. W rozdziale tym przedstawiono informacje dotyczące pochodzenia fluoru w skorupie ziemskiej, omówiono źródła pochodzenia tego pierwiastka w środowisku, w glebie, wodach powierzchniowych i gruntowych oraz atmosferze. Zawarto informacje ukazujące przyczyny obecności wysokich stężeń jonów fluorowych w środowisku, które na obszarze Europy najczęściej są pochodzenia antropogenicznego. Co istotne, uzasadniono dlaczego to hodowla drobiu jest znaczącym źródłem fluoru przedostającego się do środowiska naturalnego. W części teoretycznej pracy doktorskiej omówiono zagadnienie fitotoksyczności fluoru a w szczególności jego wpływ na degradację chlorofilu i wydajność fotosyntezy. W pierwszej części dysertacji opisano także negatywny wpływ, zanieczyszczenia związkami fluoru na mikroorganizmy glebowe i mikrobom roślin. Tu nasuwa się pytanie: Czy znane są Panu przykłady mikroorganizmów zdolnych do usuwania zanieczyszczeń fluorem? We wprowadzeniu poruszono także problem rozprzestrzeniania się szczepów bakteryjnych opornych na antybiotyki, powodowany m.in. stosowaniem antybiotyków z grupy fluorochinolonów oraz uzasadniono wybór pefloksacyny, antybiotyku z tej grupy jako czynnika zaburzającego strukturę mikrobiomu roślin. Nie ma wątpliwości, że wybór rzęsy drobnej (*Lemna minor* L.) i rukoli (*Eruca*

sativa L.) jako materiału badawczego był zasadny dla wyjaśnienia ekologicznych i epidemiologicznych konsekwencji zanieczyszczenia środowiska związkami fluoru.
Dane literaturowej podane w tym rozdziale pracy doktorskiej są starannie dobrane i dostarczają wiedzy kluczowej dla zrozumienia sensu otrzymanych wyników. Wysoko oceniam wiedzę teoretyczną Pana mgr. Jana Kamińskiego. Na podkreślenie zasługuje umiejętność wyboru kluczowych informacji spośród wielu dostępnych.

3.2. Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktoranta

Pan mgr Jan Kamiński jest pierwszym autorem obu publikacji wchodzących w zakres pracy doktorskiej. Po zapoznaniu się z rozdziałami wprowadzającymi (Stan wiedzy i uzasadnienie badań, Cel, Wyniki i dyskusja) oraz kopii publikacji można zauważyć, że na całokształt wykonanej pracy badawczej składa się szereg logicznie ze sobą powiązanych doświadczeń, których celem jest dostarczenie odpowiedzi na postawione hipotezy, a praca badawcza oparta jest o model hipoteza - weryfikacja. Badania zaplanowane i przeprowadzone przez Doktoranta wskazują na dojrzałość naukową i dociekliwość młodego badacza.

Punktem wyjścia badań był istotny problem zanieczyszczenia środowiska związkami fluoru, nie tylko w Polsce ale i na świecie, związany z hodowlą brojlerów. Fermy brojlerów wytwarzają duże ilości odchodów zanieczyszczonych związkami fluoru, wynikającymi ze stosowania na dużą skalę antybiotyków, w tym ciprofloksacyny. Doktorant kontynuując badania dokonał także oceny wpływu jonów fluorkowych i innego antybiotyku pefloksacyny na wzrost rukoli i mikrobiomy, zarówno fyllosfery jak i ryzosfery tej rośliny użytkowej.
Na uznanie zasługuje szeroki zakres ścieżek eksperymentalnych, a także wybór przez Doktoranta właściwego podejścia metodologicznego i umiejętność interpretacji wyników. W pracy doktorskiej zastosowano wiele metod badawczych: fizykochemicznych, fizjologicznych, biochemicznych i molekularnych, w tym analiz bioinformatycznych. Zakres posługiwania się tak zróżnicowaną metodologią wskazuje na dojrzałość naukową młodego badacza, bardzo cenną dla ukształtowania się jego samodzielności naukowej. Wysoko oceniam umiejętność samodzielnego prowadzenia badań przez mgr. Jana Kamińskiego, doceniam przyjęte schematy, metodologie i planowanie kolejnych etapów badań w oparciu o otrzymane wyniki. Uważam, że w tym zakresie praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim.

3.3. Ocena stopnia oryginalności rozwiązania problemu naukowego przez Doktoranta

Problem naukowy w ocenianej rozprawie doktorskiej można zdefiniować jako wyjaśnienie ekologicznych i epidemiologicznych konsekwencji zanieczyszczenia środowiska związkami fluoru, ze szczególnym uwzględnieniem jonów fluorowych oraz fluorowanych antybiotyków z grupy fluorochinolonów. Doktorant podjął się także eksperymentalnej weryfikacji nowego, dotąd niepotwierdzonego, mechanizmu degradacji chlorofilu indukowanej obecnością fluoru.

Początkiem prowadzonych badań było oparte o literaturę założenie, że związki fluoru wpływają niekorzystnie na rośliny i środowisko. Zatem w pierwszym etapie wykonano analizę fizykochemiczną próbek gleby zlokalizowanych w różnej odległości od składowiska odchodów pochodzących z fermy drobiu. Wykazano, że próbki badanej gleby zawierają wapń i glin, pierwiastki o wysokim powinowactwie z fluorem. Sprawdzono także zawartość fluoru w oborniku oraz w próbkach gleby i stwierdzono wysokie stężenia tego pierwiastka w pryzmie odchodów w zakresie 37 do 48 mg/kg i podwyższone stężenia tego pierwiastka w glebie, w zakresie 2,1-4,9 mg/ kg. Badania przeprowadzono na rzęsie drobnej w warunkach laboratoryjnych, w których wykorzystano wodne ekstrakty gleby zawierającej związki fluoru oraz pożywkę Murashige i Skooga z dodatkiem fluorku sodu. Po siedmiu dniach nie zanotowano zmian w parametrach morfologicznych roślin, z wyjątkiem próby o najwyższym stężeniu NaF (210 mg/l), w której zaobserwowano zahamowanie wzrostu roślin i chlorozę. Nasuwają się tu pytania, czy wydłużenie czasu eksperymentu mogłoby doprowadzić do uwidocznienia zmian w analizowanych parametrach biometrycznych, w przypadku zastosowanych niższych stężeń jonów fluorowych? Czy inne stresy na jakie narażone są rośliny mogą powodować symptomy podobne do stresu wywołanego obecnością jonów fluorkowych? Zaobserwowano spadek zawartości chlorofilu oraz aktywności enzymów dehydratazy kwasu δ-aminolewulinowego i chlorofilazy w obecności fluoru w stężeniu 4,9 mg/l, a 2,5 razy mniejsza ilość tego pierwiastka wpływała na wzrost aktywności tych enzymów. Ponadto stwierdzono 85% spadek zawartości jonów fluorkowych w ekstraktach glebowych po siedmiu dniach eksperymentu, co wskazuje na zdolność *L. minor* do pobierania fluoru ze środowiska wodnego. Co więcej w eksperymencie *in vitro* wykazano że jony fluorkowe tworzą z chlorofilem *a* kompleksy, zmieniające właściwości optyczne i funkcjonalne barwnika. Pokazuje to, że obecności fluoru w środowisku powoduje w roślinach zmiany na poziomie biochemicznym i molekularnym.

Kontynuowane badania nad problemem wpływu zanieczyszczeń związkami fluoru na środowisko skupiły się na analizie pefloksacyny, antybiotyku z grupy fluorochinolonów, która dotychczas nie była badana pod kątem oddziaływania na mikrobiom rukoli i jej ryzosferę w warunkach

kontrolowanych. W tym badaniu nie stwierdzono negatywnego wpływu pefloksacyny i fluorku sodu na wzrost i rozwój 4-tygodniowej rukoli. Wykorzystując technikę sekwencjonowania wysokoprzepustowego oceniono także wpływ powyższych czynników na mikrobom fyllosfery i ryzosfery rukoli. Wykazano zmiany w bioróżnorodności mikroorganizmów w obu mikrobiomach, które były w większej mierze spowodowane obecnością fluorku sodu niż pefloksacyny. Stwierdzono, że pod wpływem narażenia na NaF mikrobiom ryzosfery był stosunkowo stabilny na wyższych poziomach taksonomicznych ale wykazywał selektywny wzrost zwłaszcza w obrębie klasy *Thermoleophila.* Zmiany w strukturze mikrobiomu fellosfery wynikały przede wszystkim ze wzrostu liczebności bakterii należących do rzędu *Burkholderiales*. Na niższych poziomach taksonomicznych zaobserwowano zmiany w obrębie drobnoustrojów uczestniczących w cyklu azotowym i procesach odżywiania roślin. Ponadto obecność fluoru spowodował wyeliminowanie przedstawicieli rodzaju *Pedobacter,* charakteryzujących się szerokim spektrum oporności na antybiotyki. Wykorzystując narzędzie bioinformatycznych PICRUSt2 wykazano, że w obrębie mikrobiomu fyllosfery, największe zmiany dotyczyły szlaków metabolicznych związanych z przemianami węgla, co sugeruje podatność głównych procesów metabolicznych bakterii na stres wywołany obecności fluoru. Czy zastanawiał się Pan badając wpływ fluoru na rośliny, w jaki sposób transportowany jest fluor u bakterii i roślin? Proszę o krótki komentarz.

Do najciekawszych i najważniejszych ustaleń ocenianej rozprawy doktorskiej zaliczam wykazanie że:

1. Składowanie odchodów drobiu, u którego w hodowli stosowano antybiotyk ciprofloksacynę w kontakcie z glebą prowadzi do uwalniania fluorków negatywnie oddziałujących na *Lemna minor* a efekty obserwowane są głównie na poziomie biochemicznym i molekularnym tej rośliny. Dlatego też rzęsa drobna nie jest gatunkiem, który mógłby być wykorzystywany, jako bioindykatora zanieczyszczeń fluorem;
2. Jony fluorkowe oddziałują chemicznie z cząsteczką chlorofilu *a*, tworząc nowe wiązanie i nie wymaga to usunięcia jonu magnezu z pierścienia porfirynowego;
3. Fluor w stężeniu 4,9 mg/l znacznie obniża aktywność enzymów związanych z metabolizmem chlorofilu;
4. Antybiotyk pefloksacyna oraz jony fluorkowe mają wpływ na zmiany bioróżnorodności, zwłaszcza fyllosfery *Eruca sativa* i obejmują zaburzenia liczebności mikroorganizmów istotnych dla funkcjonowania roślin oraz wzrost bakterii potencjalnie będących nosicieli genów oporności na antybiotyki;

5. Fluor i pefloksacyna wpływają na zmiany w profilach metabolicznych bakterii, szczególnie w obrębie szlaków metabolizmu związków węgla.

W pracy doktorskiej nie znalazłam żadnych poważnych niedociągnięć. Z obowiązku recenzenta, zwracam jedynie uwagę na kilka aspektów:

1. Warto, w przyszłości zwrócić uwagę na pisownię skrótu słowa litr zapisujemy w języku polskim małą a nie wielką literą l (strona 18, wers 2);
2. We wstępie teoretycznym na Figurze 1., str. 13, zaprezentowano strukturę chemiczną pefloksacyny i ciprofloksacyny, wzmianka o tym drugim antybiotyku w tekście znajduje się na stronie 11, wers 13., jednak nie podano w tym miejscu odniesienia do figury 1;
3. Zgodnie z przyjętą zasadą podpisy do Figur umieszczamy pod a nie nad ryciną, co nie zostało uwzględnione w przypadku Figury 1, str. 13.
4. W mojej opinii, zabrakło mi w pracy doktorskiej podsumowania, które na przykład w formie ryciny pokazałoby wpływ fluoru na rośliny i ich mikrobom. Proszę Doktoranta o przygotowanie i przedstawienie takiego podsumowania podczas obrony i wskazanie w jaki sposób chciałby kontynuować badania, gdyby była taka możliwość.

Podsumowując, dzięki właściwie postawionym hipotezom i celom badawczym, poprawnie zaplanowanym i przeprowadzonym z wykorzystaniem odpowiednich metod badawczych, otrzymano interesujące i oryginalne wyniki, charakteryzujące po raz pierwszy oddziaływanie jonów fluorowych na cząsteczki chlorofilu *a* oraz pefloksacyny na parametry biometryczne *Eruca sativa* i jej mikrobom. Oryginalność prowadzonych badań polegała na wykonaniu uzupełniających się merytorycznie różnorodnych doświadczeń i pomiarów, których wyniki są na tyle powiązane, że w szerokim zakresie charakteryzują reakcje fizjologiczno-biochemiczne roślin na zanieczyszczenia środowiska naturalnego związkami fluoru. Oceniam zatem, że kryterium oryginalności rozwiązania problemu jest całkowicie wypełnione.

Wniosek końcowy

Zgodnie z powołaniem z dnia 14.07.2026 r. stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, z aktualnym Dziennikiem Ustaw (t.j. Dz. U. 2024, poz. 1571 ze zm.). Pozytywna opinia o treściach zawartych w trzech elementach wskazanych w ustawie została wyrażona powyżej z podaniem uzasadnienia. Doktorant prezentuje obszerną wiedzę teoretyczną,

umiejętność stawiania hipotez i dobierania odpowiednich metod dla weryfikacji. Biorąc pod uwagę zaprezentowany oryginalny dorobek naukowy stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w wyżej wymienionej ustawie i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie magistra Jana Kamińskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Zwracam się też z prośbą do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr. Jana Kamińskiego.
Uzasadnienie:

Zawarte w rozprawie publikacje są spójne tematycznie, przyczyniają się do poszerzenia omawianej tematyki i są cennym uzupełnieniem dostępnego piśmiennictwa naukowego. Prace doktorska ma charakter interdyscyplinarny i dużą wartość poznawczą a treść merytoryczna rozprawy oraz sposób formułowania wniosków wskazuje na bardzo dobre opanowanie przez Doktoranta warsztat badawczego. Przeprowadzone przez Doktoranta badania, pokazały istnienie rzeczywistego problemu i są pierwszym krokiem do kolejnych badań, które mogłyby potencjalnie doprowadzić do opracowania praktycznego rozwiązania mającego na celu ograniczenie lub wyeliminowanie negatywnego oddziaływania odpadów pochodzących z ferm drobiu na rośliny i środowisko. Ważnym argumentem wspierającym wniosek jest fakt, że w jednym z artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej Doktorant jest pierwszym autorem dwuautorskiej publikacji, co w naukach eksperymentalnych jest coraz częściej wyjątkowe.
Wszystkie te fakty wskazują na bardzo duże zaangażowanie mgr. Jana Kamińskiego w badania i zasługują na wyróżnienie.

G. Dąbrowska

prof. dr hab. Grażyna Dąbrowska