Prof. dr hab. Mirosław Mleczek
Katedra Chemii
Wydział Leśny i Technologii Drewna
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań, 16 czerwca 2021 r.

Recenzja
maszynopisu rozprawy doktorskiej mgr. inż. Łukasza Gila pt: „Zawartość substancji biologicznie czynnych oraz właściwości termofizyczne i skład elementarny dendromasy pozyskiwanej w krótkich rotacjach zbioru".

Podstawa prawna

Niniejszą recenzję wykonałem w oparciu o uchwałę Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oraz pismo WRiL-dz. 5350.1.2021 Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Pani prof. dr hab. Agnieszki Pszczółkowskiej z dnia 1 czerwca br.

Promotorem rozprawy jest Pan prof. dr hab. Mariusz Stolarski, natomiast promotorem pomocniczym Pan dr Michał Łuczyński.

Wprowadzenie

Możliwość wielotorowego wykorzystania dendromasy z racji zróżnicowanej zawartości rozmaitych substancji chemicznych, stanowi jeden z najciekawszych wątków badań wynikających z potrzeb zmieniającego się rynku, lecz przede wszystkim wymagań stawianych w celu prowadzenia zrównoważonego rozwoju. Kurczące się systematycznie zasoby naturalne w postaci ropy naftowej czy węgla, przy nienotowanej dotychczas dynamice niekorzystnych zmian zachodzących w środowisku, zmuszają do poszukiwania alternatywnych rozwiązań w celu prowadzenia zrównoważonej produkcji biomasy pierwotnej, przetwarzanej w zasoby organiczne. Biomasa wydaje się być rozwiązaniem kluczowym z racji rozwoju rynku bioproduktów, które szczególnie w ostatnich latach zyskały nie tyle na popularności, co w świadomości wielu społeczeństw wpisały się, jako obiecujące rozwiązanie proekologiczne w odniesieniu do jakości życia przyszłych pokoleń. Możliwość optymalizacji procesu uprawy w połączeniu z wyodrębnieniem z ogromnej populacji drzew i krzewów tych gatunków, które cechować będzie optymalny skład chemiczny substancji pożądanych z punktu widzenia produktów końcowych, wydaje się być rozwiązaniem szczególnie istotnym. Ma to swoje uzasadnienie w stale

rosnącym popycie na biomasę roślinną a zarazem jest szansą na poszerzanie już jej wielokierunkowego wykorzystania w praktyce.

Określenie zmienności składu chemicznego w obrębie wielu gatunków roślin nie jest zagadnieniem nowym, jednakże trudnym, bo wymagającym prowadzenia – zazwyczaj – badań o charakterze interdyscyplinarnym oraz zgromadzenia reprezentatywnego materiału, przy uwzględnieniu zmienności wynikającej z działania czynników środowiskowych. Tematyka przedłożonej mi do recenzji dysertacji porusza problem zmienności w formie rzetelnie przemyślanej struktury kolejnych działań (uprawa, zbiór, analiza fizyko-chemiczna wybranych parametrów), zmierzających do określenia przydatności biomasy 14 genotypów roślin drzewiastych uprawianych dodatkowo w krótkich rotacjach zbioru w odniesieniu do możliwości jej różnorodnego wykorzystania. Ten aspekt wielokrotnie stanowił przedmiot badań licznych publikacji naukowych, jednakże jak dotąd został opisany pobieżnie, głównie z racji ogromnej liczby roślin oraz układów, w których rośliny te mogą wykazywać istotną zmienność cech. Z tego względu rozprawa doktorska stanowi wartościowe opracowanie i usystematyzowanie wielu ważnych informacji, przy uwzględnieniu zmian ekonomicznych i legislacyjnych z wyraźnym wskazaniem na potrzeby otaczającej nas rzeczywistości, nie mając przy tym charakteru wyłącznie lokalnego.

Ocena formalna pracy

Przystępując do czytania rozprawy doktorskiej, już na wstępie moją uwagę przykuł jej rozmiar, obejmujący aż 223 strony wraz z 44 rysunkami oraz 57 tabelami, co na tle większości podobnych opracowań stanowi dzieło znaczących rozmiarów. Na tej pokaźnej liczbie stron dokonano rzetelnego przeglądu literatury naukowej, ściśle związanej z przedmiotem prowadzonych badań, o czym świadczy cytowanie aż 357 pozycji literaturowych w tym 272 anglojęzycznych. Należy podkreślić, że pozostałe 85 pozycji w języku polskim dotyczy w większości aspektów prawnych lub metodycznych ujętych w rozprawie, a także danych statystycznych, jak choćby opracowania Głównego Urzędu Statystycznego. Znacząca liczba zgormadzonych danych literaturowych w rozprawie przekłada się na poprawnie zorganizowany i mocno rozbudowany „Przegląd literatury", który jest niewątpliwie jej silną stroną.

Poza drobnymi błędami stylistycznymi i interpunkcyjnymi, które niestety pojawiają się w każdym tego rodzaju opracowaniu, rozprawę doktorską czyta się z przyjemnością. Ogólnie praca ta została napisana językiem poprawnym i prostym, opatrzenie jej specjalistyczną terminologią przez Autora świadczy o jego wiedzy oraz profesjonalizmie nadzorujących treści Promotora i Promotora pomocniczego. Pojawiają się w niej jednak zbędne powtórzenia lub niepoprawny szyk zdania, jak choćby na stronie 56 „(...) w zależności od potrzeb realizowanych wówczas eksperymentów realizowanych w Katedrze", czy też „Natomiast w 2014 roku, na początku okresu wegetacji, w kwietniu na części plantacji...". Podobnie w streszczeniu rozprawy jej Autor użył stwierdzenia „(...) genotypem, który charakteryzował

się najwyższym poziomem plonowania suchego drewna o dobrych parametrach...", co oczywiście stanowi spore uogólnienie jednego z kluczowych wyników.

Układ pracy nie budzi zastrzeżeń, a ponadto wysoko oceniam graficzną prezentację wyników, widm spektroskopii IR, NMR czy diagramów, które są czytelne i w sposób jednoznaczny opisują dane zagadnienia, ułatwiając zarazem zrozumienie opisywanych treści. Na dodatkowy komentarz i sugestię recenzenta zasługuje Rysunek 12 na stronie 51, przedstawiający wahania cen ropy naftowej na przestrzeni lat 2004-2021. Rysunek ten przedstawia punkty odpowiadające średniej cenie ropy naftowej wyłącznie w określonych latach a nie pomiar ciągły w czasie. Taki sposób prezentacji wymaga linii przerywanej a nie ciągłej. To oczywiście nie wpływa na interpretację danych, gdyż połączenie punktów liniami można interpretować, jako swego rodzaju trend pomiędzy latami, nie mniej zwracam uwagę Autorowi, gdyż w badaniach własnych taki sposób prezentacji wyników nie zawsze uznawany jest za w pełni poprawny.

Ocena szczegółowa prezentowanych treści

Tytuł pracy został sformułowany poprawnie, syntetycznie ujmując wszystkie najważniejsze zagadnienia w niej poruszane. Praca rozpoczyna się od obszernego spisu treści, który jednak w istotny sposób ułatwia poruszanie się po obszernym materiale. Choć spis rysunków i tabel zwykle umieszczany jest na końcu, a nie na początku tego rodzaju opracowań, w tym przypadku spełnił doskonale swoją rolę. We wprowadzeniu Autor dokonał opisu problemu badawczego, wskazując na hipotezy badawcze oraz cel główny oraz cele szczegółowe. Cel główny, który z definicji powinien dostarczyć odpowiedzi na pytanie o oczekiwany efekt a także cele szczegółowe, które przyczyniają się do osiągnięcia celu głównego, nie budzą najmniejszych zastrzeżeń.

Pewną wątpliwość wzbudził natomiast fragment hipotezy pierwszej. Różnorodność biologiczna roślin, tzn. i genetyczna i gatunkowa i ekosystemalna, ma istotny wpływ na zróżnicowanie zawartości substancji biologicznie czynnych, a wielkość tego wpływu zależna będzie od liczby populacji porównywanych roślin w przypadku badań modelowych, natomiast od liczby populacji i wielkości wpływu czynników środowiskowych w przypadku badań polowych. Wydaje się, że w świetle dostępnych danych literaturowych, odpowiedź w tym zakresie jest już częściowo znana. Zgadzam się natomiast całkowicie z drugą częścią hipotezy o zmienności w zakresie badanych parametrów termofizycznych, jak również składu elementarnego.

Za dość dyskusyjny, pomimo podania źródła Recenzent uważa koniec następującego zdania: „Plantacje te powinny być głównie zakładane na glebach marginalnych o słabej przydatności rolniczej zdefiniowanych w literaturze jako tereny z nieuregulowanymi stosunkami wodnymi (okresowo zbyt suche, bądź czasowo podtapiane), o słabej bonitacji, a także zanieczyszczone lub zdegradowane działalnością człowieka", szczególnie w odniesieniu do gleb zanieczyszczonych. Niestety wzrost drzew i krzewów zdolnych do efektywnej fitoekstrakcji pierwiastków toksycznych powoduje w pierwszej kolejności znaczną redukcję biomasy, połączoną często z translokacją wybranych metali/metaloidów do

organów nadziemnych, co znacząco ogranicza możliwość wykorzystania biomasy. Co więcej znaczące zmiany zachodzą w profilu związków fenolowych oraz kwasów organicznych o niskich masach cząsteczkowych. Trudno mówić tutaj o fitoekstrakcji na poziomie metalofitu *Sebertia acuminata* opisanego przez Jaffre w 1976 roku (hiperakumulator niklu), nie mniej przy odpowiednio niskim odczynie gleby i zawartości materii organicznej, akumulacja m.in. arsenu, cynku, miedzi czy talu może być dynamiczna, a to rzutować będzie na brak możliwości lub ograniczenie wykorzystania biomasy w praktyce.

W rozdziale Przegląd literatury liczącym 40 stron, jego Autor zgromadził zagadnienia kluczowe i zarazem niezbędne dla pełnego zrozumienia całego dzieła. Z dużym wyczuciem wskazał i uzasadnił podejmowany problem badawczy, umiejscawiając go na tle zmian dokonujących się globalnie (wzrost populacji na świecie, zużycie energii), wskazując zarazem na fundamentalne zagadnienia związane z obecną i przyszłą biogospodarką, perspektywami jej rozwoju oraz charakterystyką rynku bioproduktów. Autor rozprawy dokonał także charakterystyki roślin wieloletnich uprawianych w Polsce, opisując biomasę wybranych roślin drzewiastych w odniesieniu do kluczowych związków bioaktywnych, a także istotność odnawialnych źródeł energii w kontekście zmian klimatycznych. Tę część pracy oceniam pozytywnie za dobór danych literaturowych, sposób prezentacji oraz ogólny układ. Nieco gorzej oceniam formę wypowiedzi Autora w wybranych fragmentach, w których posłużył się swego rodzaju „skrótami myślowymi":

Strona 19: „(...) oraz potencjalnymi możliwościami biologii" – biologia jest nauką, więc choć jasno można odczytać zamysł Autora, to sformułowanie nie powinno zostać użyte w prezentowanej formie;

Strona 20: „Polska, jak również wiele innych europejskich gospodarek...: - zdaniem recenzenta sformułowanie o treści: „Gospodarka Polski, jak i wielu innych krajów europejskich..." byłoby właściwszym, bo choć ponownie wiadomo, o co chodzi, szczególnie dodatkowa obecność znaku interpunkcyjnego w pierwszym odbiorze może budzić głębsze zastanowienie;

Strona 33: „Wg Stolarskiego i Krzyżaniaka..." - nie należy rozpoczynać zdania od skrótu i choć to jedyny taki błąd w rozprawie i z pewnością niezamierzony, to jednak uważam, że warto o tym pamiętać.

W rozdziale Materiały i metody, Autor rozprawy scharakteryzował doświadczenie polowe, jasno wskazując na lokalizację, sposób jego prowadzenia, a także przedmiot badań i czynniki doświadczalne. Czternaście genotypów roślin drzewiastych pochodzących z kolekcji Katedry Genetyki, Hodowli Roślin i Inżynierii Biosurowców, zostało jasno zaprezentowanych z uwzględnieniem ich przynależności do rodzajów *Robinia*, *Populus* oraz *Salix*. Następnie zaprezentowana została część analityczna związana z pozyskaniem i wstępnym przygotowaniem materiałów badawczych, analizą związków bioaktywnych, właściwości termofizycznych, składu elementarnego drewna oraz plonu biomasy. Zastosowana metodyka nie budzi większych zastrzeżeń, natomiast zwraca uwagę tytuł punktu 3.2.2. „Zawartość kory i drewna w biomasie" sugerujący prezentację wyników badań. Zdaniem recenzenta jego treść powinna

rozpoczynać się od słowa „ocena" lub „oznaczanie", co również jednoznacznie zakwalifikowałoby ten punkt do rozdziału Materiały i metody.

Wyjaśnienia wymagają informację dotyczące terminu poboru próbek materiałów roślinnych. Na stronie 56 rozprawy, Autor informuje o doświadczeniach prowadzonych w latach 2009-2013 przez Katedrę, w której realizował swoje badania, a następnie o dwuczynnikowym doświadczeniu uformowanym w roku 2014, które jest przedmiotem jego rozprawy. O ile informacja o zbiorze materiału w czteroletniej rotacji zbioru względem danych na stronie 58 nie budzi najmniejszych zastrzeżeń, o tyle pierwsze zdanie na tejże stronie informujące o zbiorze materiałów w latach 2018-2020. Nie do końca jest to jasne i należy to doprecyzować na etapie publikacji wyników, tak aby potencjalny czytelnik miał pełną jasność w tym zakresie.

Bardzo wysoko oceniam część metodyczną związaną z pozyskiwaniem problematycznych standardów analitycznych na drodze ich syntezy (populina) lub ekstrakcji (salikoryna i salirepozyd), połączonej z wykorzystaniem szeregu technik analitycznych. Autor rozprawy posłużył się wysokosprawną chromatografią cieczową do oczyszczania związków, a następnie spektroskopią w podczerwieni (IR) oraz spektroskopią magnetycznego rezonansu jądrowego ^{1}H i ^{13}C NMR do potwierdzenia struktury wymienionych związków chemicznych. Odniesienie uzyskanych wyników do dostępnych źródeł literaturowych utwierdza mnie z przekonaniu, że Autor rozprawy posiada wiedzę i umiejętność w ich stosowaniu, mając również świadomość istotności tych technik w tego rodzaju badaniach.

Umieszczony na końcu rozdziału punkt Analiza statystyczna został przygotowany poprawnie, jednakże z racji badania różnych genotypów roślin należących do trzech różnych rodzajów, uzasadnionym byłoby poszerzenie obliczeń statystycznych choćby o analizę składowych głównych (ang. Principal Component Analysis), natomiast w zakresie badania związków bioaktywnych, wykorzystanie map ciepła. Powyższa uwaga to jedynie sugestia Recenzenta względem prezentacji wartościowych wyników przed ich ostatecznym opublikowaniem w wiodących periodykach naukowych. Graficzne prezentacje wyników w rozbudowanych układach doświadczalnych jak w recenzowanej rozprawie doktorskiej, pomimo wyjaśniania tylko części zmienności z uwagi na przejście z układu n- do układu 2-wymiarowego, pozwalają na stwierdzenie wielu dodatkowych i cennych zależności, które jeszcze bardziej mogą wzbogacić interpretację uzyskanych w pracy wyników.

W punkcie 3.5. Prezentacja wyników, Autor wskazał na obliczanie średnich wartości, nie mniej z racji badań środowiskowych za ogólnie „właściwszą" powszechnie uważa się medianę. Czy taki sposób prezentacji wyników jest efektem obserwacji Autora, w których różnice pomiędzy wartościami średnimi i medianą były nieznaczne? Podobnie z prezentacją wyników oznaczeń poszczególnych wielkości. Coraz powszechniejsze i uzasadnione jest prezentowanie wyników analitycznych z dokładnością do trzech cyfr znaczących, co staje się już niemalże standardem w wielu czasopismach naukowych, choćby wydawnictw Elsevier czy Willey Blackwell. Tymczasem w pracy nie stwierdziłem ujednoliconego sposobu prezentacji wyników, stąd zasadne wydaje się pytanie o celowość takiego działania. Oczywiście sugerowany sposób prezentacji wartości liczbowych w rozprawach doktorskich nie jest

nadal obligatoryjny, nie mniej także i ta uwaga stanowi wyłącznie sugestię w przypadku decyzji o publikowaniu wyników rozprawy w wysoko punktowanych czasopismach naukowych.

Sporym utrudnieniem w interpretacji wyników względem zaprezentowanych opisów jest brak wprowadzenia stosownych oznaczeń (rysunki 33-44), wskazujących na istotność różnic pomiędzy kolejnymi wartościami średnimi. Autor rozprawy w sposób poprawny opisał zastosowane narzędzia statystyczne (punkt 3.4. rozprawy) w tym w szczególności test istotności Tukey`a, jednakże ryciny pozbawił bardzo ważnego elementu pozostawiając jedynie wartości błędów standardowych. Analizując wyniki opisane choćby na stronie 91 dotyczące zawartości kory i drewna w dendromasie w zależności od grubości pędów, wspomniany brak oznaczeń utrudnia weryfikację określonych stwierdzeń, jak choćby: „Spośród analizowanych średnic, największy udział kory w świeżej dendromasie stwierdzono w przypadku pędów o grubości z zakresu 0,4-0.7 cm – średnio 47,45%". Jeśli przypatrzymy się uważnie błędom standardowym dla wspomnianych pędów a ścisłej średniej wartości dla *Populus balsamifera* UWM 2, można odnieść wrażenie, że przytoczony powyżej wniosek ma charakter uogólnienia i jednak nie odnosi się do wszystkich badanych genotypów. W takim przypadku warto byłoby wprowadzić dodatkowy wyraz „generalnie" lub „w przypadku większości", co całkowicie rozwiałoby wątpliwości. Zupełnie inaczej wygląda to w przypadku tabel 13-20, 22-35, a także 37-53 i 55, w których to Autor w sposób poprawny dokonał porównania badanych genotypów, wskazując ponadto na jednorodne grupy obiektów (genotypów). Z tego powodu Recenzent sugeruje opatrzenie rycin stosownymi oznaczeniami.

Dyskusja wyników została poprowadzona rzetelnie i ukierunkowana tak, aby podejmowane w rozprawie kwestie znalazły odzwierciedlenie w prowadzonych dotychczas badaniach w kraju, jak i poza jego granicami. Na przyszłość Recenzent sugeruje jednak rozbić podejmowane zagadnienia i uwypuklić więcej szczegółów, ponieważ cytowanie kilkunastu doniesień literaturowych względem określonej obserwacji lub uzyskanych wyników (m.in. na stronie 177), wydaje się być nieuzasadnione. Tematyka publikacji naukowych, nawet jeśli zbliżona zawsze wnosi coś nowatorskiego, co warto byłoby ustawić w formie kontrastu do wyników uzyskanych przez Autora rozprawy.

Na rozdział zatytułowany Wnioski składa się aż 15 mniej lub bardziej rozbudowanych punktów. Pomimo preferowania przez Recenzenta wniosków w formie zdecydowanie bardziej syntetycznej, przyjętą formę z racji prowadzonych badań oraz uzyskanych wyników oceniam jako poprawną. Autor rozprawy wskazuje na najważniejsze wyniki i zależności. Co istotne, we wnioskach wskazał on na wartości skrajne (m. in. punkty 1, 3 oraz 8), co w odniesieniu do przyjętego celu rozprawy „(...) ocena przydatności biomasy badanych genotypów... do wielokierunkowego wykorzystania", znacząco ułatwia przypisanie poszczególnych genotypów pod względem ich ukierunkowanego wykorzystania i jest bardzo wartościowe z praktycznego punktu widzenia. Wniosek nr 4 mógłby być przedstawiony w formie szeregu, ponieważ odzwierciedla zróżnicowaną zawartość poszczególnych związków bioaktywnych w korze analizowanych roślin, a przez to byłby łatwiejszy w odbiorze. W drugim z trzech zdań składających się na przedmiotowy wniosek, Autor rozprawy użył stwierdzenia: „Istotnie mniejszy

udział określono w przypadku kwasu salicylowego...". Zdaniem Recenzenta, preferowaną formą byłoby „Istotnie niższą zawartość kwasu salicylowego...".

W rozdziale 8 rozprawy doktorskiej, jej Autor dokonał opisu wykonanych badań względem polityki naukowej, naukowo-technicznej, innowacyjnej i społecznej w Polsce, jak również związkiem z działalnością przedsiębiorstwa. Ten punkt oceniam jako niezwykle ważny ze względu na charakter rozprawy (doktorat wdrożeniowy). Uzyskanie rzetelnych wyników nie jest sprawą łatwą, natomiast jeszcze trudniejsza jest ich interpretacja i właściwe osadzenie względem konkretnego stanu rzeczy, co bynajmniej w odczuciu Recenzenta udało się Autorowi rozprawy.

Ocena ogólna rozprawy

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska Pana mgr. inż. Łukasza Gila, zawiera w sobie szereg interesujących i niezwykle wartościowych wyników o znaczeniu praktycznym. Przejrzysta i przemyślana praca począwszy od prezentacji bogatego materiału doświadczalnego i zastosowanej metodyki badań, poprzez opis uzyskanych wyników a finalnie dyskusję i wnioski końcowe skłaniają mnie do wysoce pozytywnej oceny rozprawy doktorskiej. Stanowisko to podtrzymuję pomimo uwag poczynionych względem pracy w niniejszej recenzji, które w żaden sposób nie obniżają jej ogólnej wartości naukowej. Pragnę w tym miejscu także podkreślić ogromny nakład pracy, jaki został włożony przez Autora rozprawy doktorskiej w jej przygotowanie oraz sposób jej realizacji ze wsparciem finansowym pochodzącym z różnych źródeł.

Wniosek końcowy

Stwierdzam jednoznacznie, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr. inż. Łukasza Gila pt.: „Zawartość substancji biologicznie czynnych oraz właściwości termofizyczne i skład elementarny dendromasy pozyskiwanej w krótkich rotacjach zbioru" spełnia wymagania stawiane tego typu pracom w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 r. poz. 478 ze zm.) wnosząc znaczący wkład naukowy w rozwój nauk rolniczych, co tym samym w pełni kwalifikuje Kandydata do ubiegania się o stopień doktora nauk rolniczych w zakresie dyscypliny naukowej rolnictwo i ogrodnictwo. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pana mgr. inż. Łukasza Gila do dalszych etapów procedury postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Biorąc pod uwagę zakres przeprowadzonych oryginalnych badań, jak i przede wszystkim szereg wartościowych wyników uzyskanych a następnie opisanych w rozprawie oraz ich wysoki charakter aplikacyjny, stawiam wniosek o jej wyróżnienie.

Mirosław Mleczek