

Katowice, 03.08.2021r.

prof. dr hab. Grażyna A. Płaza
Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych
Katowice

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pana mgr Arnolde Font Nájera

pt.: „Dynamics of occurrence and metabolic activity of microorganisms involved in the removal of nutrients in urban sequential sedimentation-biofiltration systems”

“Dynamika występowania oraz aktywność metaboliczna mikroorganizmów zaangażowanych w usuwaniu biogenów w miejskich sekwencyjnych systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych”

Przesłanki formalno-prawne przygotowania oceny pracy doktorskiej

Podstawą wykonania oceny pracy doktorskiej Pana mgr Arnolde Font Nájera było pismo Przewodniczącej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne Pani prof. dr hab. Agnieszki Marczak z dnia 2 lipca 2021 r. informujące o powołaniu mnie na recenzenta ww pracy zgodnie z decyzją Komisji Uniwersytetu Łódzkiego podjętą na posiedzeniu w dniu 29 czerwca 2021 r.

Pan mgr Arnolde Font Najera przedstawił rozprawę doktorską zatytułowaną „*Dynamika występowania oraz aktywność metaboliczna mikroorganizmów zaangażowanych w usuwaniu biogenów w miejskich sekwencyjnych systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych*” wykonaną pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Joanny Mankiewicz-Boczek, wykonanej w Katedrze UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej Uniwersytetu Łódzkiego, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska.

Pracę wykonano w ramach programu stypendialnego Fundacji w Gwatemali (GuateFuturo Foundation) (projekt nr PCB-2017-01) oraz w ramach programu stypendialnego dla młodych naukowców i doktorantów Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego (projekty w latach 2017-2019).

1. Ocena problematyki badawczej rozprawy

Recenzowana praca doktorska Pana mgr Arnolde Font Nájera stanowi spójny cykl publikacji dotyczący badań nad zmiennością populacji bakteryjnej, szczególnie grupy bakterii biorących udział w przemianach związków biogenych – azotu i fosforu, w trzech sekwencyjnych systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych (SSBSs) w warunkach in situ, w wybranych strefach miejskich. Głównym celem badań Doktoranta było określenie dynamiki zmian populacji bakteryjnej zaangażowanej w przemiany biogenów w wyżej wymienionych systemach uwzględniając parametry środowiskowe, sezonowe oraz technologiczne.

Nadmierny dopływ ładunku związków biogenych azotu i fosforu trafiający ze środowiska lądowego do wód jest jednym z głównych problemów ekologicznych. Zanieczyszczenia te powodują eutrofizację zarówno wód śródlądowych, jak i morskich. W wyniku eutrofizacji wód dochodzi do ich wtórnego zanieczyszczenia w postaci formowania zakwitów glonów i sinic. Szczególnie niebezpieczne jest występowanie zakwitów sinic, posiadających zdolność do produkcji toksyn, co powoduje istotne zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania ekosystemów wodnych.

Coraz większą uwagę poświęca się zagadnieniu redukcji zanieczyszczeń biogenicznych ze źródeł obszarowych, zwłaszcza z terenów rolniczych oraz zurbanizowanych. Obecnie w dobie zmian klimatu, na szczególną uwagę zasługują tereny miejskie. Władze lokalne i mieszkańcy stają przed wieloma wyzwaniami społecznymi i środowiskowymi, takimi jak: zanieczyszczenie powietrza, efekt miejskich wysp ciepła, niedobory wody i powodzie, utrata walorów przyrodniczych. M.in. intensywne opady powodują powstawanie dużej ilości wód deszczowych (wód burzowych), które niosą wysoki ładunek zanieczyszczeń. Wody te spływając z obszarów zurbanizowanych, zbierają z nich wszystkie nagromadzone tam wcześniej zanieczyszczenia, i wpływając do naturalnych cieków wodnych i śródmiejskich akwenów, powodują w nich intensywne procesy eutrofizacji. W takich warunkach istotne staje się stosowanie innowacyjnych rozwiązań ekohydrologii, pozwalających skutecznie zarządzać wodą i środowiskiem nie tylko korzystając z wiedzy inżynierskiej, ale również w oparciu o poznanie i zrozumienie mechanizmów procesów biologicznych i hydrologicznych. Dzięki stosowaniu rozwiązań opartych na przyrodzie – NBS – (od ang. nature-based solutions) można skutecznie i jednocześnie rozwiązać wiele wyżej wymienionych problemów. Wdrażanie biotechnologii ekohydrologicznych w postaci stref ekotonowych czy też sekwencyjnych systemów sedymentacyjno-biofiltracyjnych jako

elementów komplementarnych z rozwiązaniami hydrotechnicznymi jest jednym z nowoczesnych podejść w zarządzaniu gospodarką wodną w obszarach zurbanizowanych, wspierających łagodzenie zmian klimatu poprzez zwiększenie miejscowej retencji i infiltracji oraz redukcję emisji gazów cieplarnianych, przynosząc przy tym inne korzyści gospodarcze, społeczne i środowiskowe.

Sekwencyjny system sedymentacyjno-biofiltracyjny (SSSB) to hydrotechniczny układ samooczyszczania się wód, redukujący zanieczyszczenia, głównie w zakresie składników biogennych (fosforu i azotu) poprzez ich geochemiczne i biologiczne mechanizmy. I właśnie obiektem badań Doktoranta były trzy sekwencyjne systemy sedymentacyjno-biofiltracyjne zlokalizowane na obszarach miejskich, w Łodzi i Gnieźnie. Systemy te to niewielkie i stosunkowo płytkie zbiorniki doczyszczające wodę przed wprowadzeniem jej do rzeki oraz łączące system odprowadzania wód burzowych z naturalnym systemem rzeczny. Składają się z następujących stref: części osadnikowej, geochemicznej oraz biologicznej obejmującej strefę denitryfikacji oraz strefę biofiltracji.

Podjęte badania umożliwiły pozyskanie nowej wiedzy naukowej na temat dynamiki zmian populacji bakteryjnej biorącej udział w przemianach związków azotu i fosforu w systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych. Na szczególną uwagę zasługują badania dotyczące charakterystyki bakterii zdolnych do akumulacji polifosforanów oraz badania dotyczące dwóch szczepów bakterii *Citrobacter freundii* i *Pseudomonas mandelli* oraz ich udziału w przemianach azotu. Wyizolowane szczepy mogą być zastosowane jako „bioszczepionka” w różnych naturalnych systemach do oczyszczania wód z pierwiastków biogennych – zwiększenie efektywności tego procesu.

Doktorantowi, po raz pierwszy, udało się scharakteryzować populację bakteryjną biorącą udział w przemianach pierwiastków biogennych wykorzystując techniki mikrobiologii tradycyjnej (metody hodowlane) oraz metody biologii molekularnej.

Biorąc pod uwagę powyższe względy, a także aktualne trendy w mikrobiologii środowiskowej, uważam podjęcie, przez Pana mgr Arnoldo Font Nájera badań ukierunkowanych na tą problematykę, za celowe i w pełni uzasadnione. Temat podjętych badań jest aktualny, pomimo wielu badań dotyczących mechanizmów przemian związków biogennych i roli mikroorganizmów w oczyszczalniach ścieków, to jednakże brak jest doniesień literaturowych dotyczących tych procesów w systemach oczyszczających jakimi są systemy sedymentacyjno-biofiltracyjne.

2. Formalna ocena rozprawy

W skład przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej wchodzi spójny tematycznie zbiór trzech publikacji:

- P1 – **Font Nájera A.**, Serwecińska L., Szklarek S., Mankiewicz-Boczek J. 2020. *Characterization and comparison of microbial communities in sequential sedimentation-biofiltration systems for removal of nutrients in urban rivers*. Ecological Engineering 149, 105796. (IF=3,512; MNiSzW=100 punktów)
- P2 – **Font Nájera A.**, Serwecińska L., Szklarek S., Mankiewicz-Boczek J. 2021. *Seasonal and spatial changes of N-transforming microbial communities in sequential sedimentation-biofiltration systems – influence of system design and environmental conditions*. International Biodeterioration & Biodegradation. 159, 105203. (IF=4,074; MNiSzW=140 punktów)
- P3 – **Font Nájera A.**, Serwecińska L., Mankiewicz-Boczek J. 2021. *Culturable nitrogen-transforming bacteria from sequential sedimentation-biofiltration systems and their potential for nutrient removal in urban polluted rivers*. Scientific Reports 11, 7448. (IF=3,998; MNiSzW=140 punktów)

Sumaryczny IF dla publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 11,584 (IF 5-letni: 12,466), natomiast sumaryczna liczba punktów MNiSW to 380 punktów. Wszystkie publikacje są w wykazie publikacji MNiSW. Doktorant we wszystkich publikacjach jest pierwszym autorem, Z przedstawionych oświadczeń Doktorant i współautorów wynika, iż Jego rola w przygotowaniu tych prac była wiodąca. Ponadto, z przedstawionych oświadczeń określających indywidualny wkład Doktoranta wynika, że miał On wiodący udział w opracowaniu koncepcji każdej z prac, wykonaniu doświadczeń, analizie wyników oraz w opracowaniu wszystkich manuskryptów i ich edycji. Procentowy udział Doktoranta w wyżej wymienionych publikacjach wynosił ponad 50%.

Publikacje umieszczone w rozprawie doktorskiej objęto wspólnym tytułem „*Dynamika występowania oraz aktywność metaboliczna mikroorganizmów zaangażowanych w usuwanie biogenów w miejskich sekwencyjnych systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych*”, a pracy, złożonej z VIII rozdziałów, nadano strukturę obejmującą: wprowadzenie (I), hipotezy badawcze i cele pracy (II i III), wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej (IV), metodologia badań (V), omówienie wyników i dyskusja

(VI), wnioski i weryfikacja hipotez sformułowanych na początku pracy (VII), załączniki stanowiące publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej wraz z oświadczeniami Doktoranta i współautorów prac (VIII), streszczenie w języku angielskim i polskim (IX i X), literatura (XI), oraz wykaz pozostałych publikacji i udział w konferencjach stanowiących dorobek naukowy oraz wykaz działalności popularyzacyjnej Doktoranta (XII). Praca w takim układzie liczy 116 strony.

Tytuł ocenianej pracy doktorskiej jest precyzyjny i w pełni odpowiada jej treści, którą stanowi cykl powiązanych tematycznie, wymienionych wyżej, trzech publikacji naukowych.

3. Merytoryczna ocena pracy

Praca koncentruje się na dwóch podstawowych aspektach naukowych:

- badanie dynamiki metabolicznej aktywności zespołów mikroorganizmów oraz charakterystyce filogenetycznej populacji bakteryjnej w zależności od parametrów środowiskowych, zmian sezonowych i technologicznych;
- badanie potencjału biotechnologicznego wybranych szczepów bakterii dla poprawy efektywności usuwania związków biogennych.

W pracy Autor zaprezentował badania podstawowe o charakterze interdyscyplinarnym z zakresu biologii, biologii molekularnej oraz mikrobiologii. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Autor w swoich badaniach wykorzystała wiedzę i warsztat badawczy z różnych dziedzin. Zastosowanie przez Doktoranta różnych metod badawczych świadczy o szerokim Jego spojrzeniu na prezentowane w pracy zagadnienia i ich wielowątkowości, co należy docenić w pracy naukowej.

Omówienie dotychczasowego stanu wiedzy w temacie rozprawy, zebrane we Wprowadzeniu jest ciekawe, wyczerpujące i wnikliwe, oparte na literaturze z ostatnich lat. Ta część pracy obejmuje omówienie sekwencyjnych systemów sedymentacyjno-biofiltracyjnych jako rozwiązań opartych na zjawiskach naturalnych oraz szczegółowy opis i rolę populacji bakteryjnej biorącej udział w przemianach związków biogennych w przyrodzie. Wnikliwa analiza literatury pozwoliła Doktorantowi na znalezienie obszarów naukowych nie zbadanych w danym temacie.

Cele badań i hipotezy badawcze zostały sformułowane w sposób precyzyjny i logiczny. W części „Metodologia badań” przedstawiono techniki wykorzystywane podczas realizacji pracy doktorskiej oraz do jakich badań zostały użyte.

W następnych rozdziałach Doktorant opisał, w sposób syntetyczny, wyniki badań uzyskane i szczegółowo przedstawione w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Opis wyników jest przedstawiony w sposób logiczny i stanowi bardzo dobre wprowadzenie do kolejnych rozdziałów, nakreślając jednocześnie spójność poszczególnych prac wchodzących w skład rozprawy. Tak zaplanowane badania umożliwiły Doktorantowi uzyskanie odpowiednich wyników oraz ich opublikowanie w wysokopunktowanych czasopiśmie z listy MNiSW.

Ilość i jakość zaplanowanych i przeprowadzonych badań w pracy świadczy o opanowaniu przez Doktoranta w stopniu bardzo dobrym warsztatu pracy doświadczalnej oraz umiejętności samodzielnego myślenia.

Uzyskane przez Doktoranta rezultaty stanowią cenny wkład w badania nad poznaniem mikrobiomu biorącego udział w przemianach związków biogenych w systemach oczyszczania wód z terenów miejskich.

Dokonując oceny pracy doktorskiej przedstawionej w formie cyklu publikacji stwierdzam, że teść pracy odpowiada jej tytułowi i sformułowanym na początku pracy celom. Analiza otrzymanych w trakcie badań wyników pozwoliła na wysunięcie odpowiednich wniosków i udowodnienie postawionych na początku badań hipotez badawczych. Przeprowadzone prace badawcze zostały już wcześniej pozytywnie ocenione przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów, co potwierdza, że podjęte badania były uzasadnione, prawidłowo zaplanowane i właściwie zrealizowane.

Uwagi do rozprawy doktorskiej

Jak już kilka razy wspominałam rozprawę doktorską Pan mgr Arnoldo Font Nájera oceniam bardzo wysoko. Jednocześnie chciałabym prosić o komentarz do zdania ze streszczenia (str. 108) „*Uzyskane wyniki przyczynią się do optymalizacji konstrukcji SSBSs, w celu zwiększenia efektywności usuwania biogenów*” – co Pan rozumie pod pojęciem „*optymalizacja konstrukcji*” ?

Proszę omówić proces defosfatacji denitryfikacyjnej jako alternatywnego rozwiązania usuwania ze ścieków związków biogenych – wady i zalety. Czy w systemach przez Pana badanych taki proces może zachodzić i jakie bakterie (bakterie dPAO) mogą być odpowiedzialne za ten proces. Czy wyizolowane i scharakteryzowane przez Pana bakterie mogą mieć takie zdolności – czyli bakterie denitryfikacyjne aktywne w usuwaniu fosforu.

WNIOSEK KOŃCOWY

Na podstawie recenzowanej pracy doktorskiej Pana mgr Arnolde Font Nájera pt.: *„Dynamika występowania oraz aktywność metaboliczna mikroorganizmów zaangażowanych w usuwaniu biogenów w miejskich sekwencyjnych systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych”* stawiam wniosek o przyjęcie przez Komisję Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne pracy doktorskiej Pana mgr Arnolde Font Nájera i dopuszczenie Jego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Przedstawiona do oceny rozprawa w pełni odpowiada warunkom stawianym dysertacjom doktorskim.

Doktorant spełnia wymagania przewidziane w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DzURP nr 65, poz. 595).

Wniosek o wyróżnienie

Z całym przekonaniem składam wniosek rekomendujący Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne podjęcie uchwały o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej Pana mgr Arnolde Font Nájera, biorąc pod uwagę: (i) nowatorski charakter badań, (ii) bardzo wysoką jakość prowadzonych badań oraz (ii) walory poznawcze i aplikacyjne przedstawionej pracy.

Doktorant prowadził badania dotyczące charakterystyki mikrobiomu biorącego udział w przemianach związków azotowych i fosforowych w systemach sedymentacyjno-biofiltracyjnych w warunkach naturalnych, in situ. Znajomość procesów przemian związków podstawowych biogenów i mikroorganizmów odpowiedzialnych za te przemiany jest szczególnie istotna w ochronie przed eutrofizacją powierzchniowych wód stojących lub retencjonowanych. Materiał do badań pochodził z trzech działających systemów sekwencyjnych sedymentacyjno-biofiltrujących.

W pracy wykorzystano metody mikrobiologii tradycyjnej (metody hodowlne) i techniki biologii molekularnej – innowacyjny model prowadzenia badań środowiskowych obejmujących charakterystykę mikrobiomu danego środowiska.

Praca posiada walory poznawcze tj. dynamika zmian aktywności metabolicznej i taksonomicznej w zależności od parametrów środowiskowych, sezonowych i technologicznych oraz walory aplikacyjne – identyfikacja i charakterystyka szczepów bakterii o potencjale biotechnologicznym w kierunku zwiększenia efektywności i skuteczności usuwania związków biogennych.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Krzysztof Gajda".