

Warszawa 08.06.2017

Dr hab. inż. Katarzyna Chwedorzewska  
Instytut Biochemii i Biofizyki  
Polska Akademia Nauk

**Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Michała Baciaka pt. „Reakcje wybranych roślin na zanieczyszczenie środowiska antybiotykami stosowanymi w medycynie weterynaryjnej”**

Praca doktorska Pana mgr inż. Michała Baciaka pt. „Reakcje wybranych roślin na zanieczyszczenie środowiska antybiotykami stosowanymi w medycynie weterynaryjnej” została wykonana w Zespole Toksykologii Środowiska, Katedrze Chemii, Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa oraz w Katedrze Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Wydziału Biologii i Biotechnologii, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Rozprawę doktorską stanowi 5 artykułów opublikowanych w czasopismach uwzględnionych w wykazie czasopism punktowanych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, czterech z listy „A” i jednego z listy „B”. Łączny współczynnik oddziaływania publikacji składających się na osiągnięcie naukowe wyniósł 5,75 IF (zgodnie z rokiem opublikowania), a suma punktów zgodnie z wykazem czasopism punktowanych MNiSW z dnia 9 grudnia 2016 wyniosła 105 punktów. Wszystkie artykuły są pracami wieloautorskimi, w czterech z nich Pan mgr inż. Michał Baciak jest pierwszym autorem, w jednej czwartym. Z

protokołów uzgodnień wynika, że wkład pracy Doktoranta w każdą z publikacji był bardzo wysoki i wahał się od 55 do 70%. We wszystkich pracach obejmował on wykonanie części eksperymentalnej, opracowanie wyników i przygotowanie manuskryptów.

Wymienione wyżej prace poprzedza liczący 41 stron opis składający się z 10 rozdziałów – 1. i 2. Streszczenie w języku polskim i angielskim, 3. Skróty, 4. Wstęp, 5. Hipoteza badawcza i cele, 6. Materiał i Metody, 7. Omówienie publikacji, stanowiących rozprawę doktorską, 8. Wnioski, 9. Spis literatury, 10. Kopie publikacji wraz z oryginałami protokołów uzgodnień współautorów.

Zanieczyszczenie gleby i wody przez antybiotyki stosowane w medycynie weterynaryjnej głównie w intensywnym chowie zwierząt staje się współcześnie poważnym problemem. Coraz więcej tych substancji stosowanych jest zarówno w terapiach, jak i profilaktycznie. Niektóre z nich są słabo wchłaniane w przewodzie pokarmowym zwierząt i wraz z odchodami trafiają do gleby i wody. Ich wpływ na środowisko naturalne jest nadal słabo poznany. W pracach wchodzących w skład dysertacji Doktorant podjął ten ważny temat oceniając wpływ wybranych leków weterynaryjnych na rośliny: jedną wodną (rzęsę wodną) i dwie użytkowe, lądowe (łubin i groch).

W pierwszym artykule pt. "Morphological and biochemical responses of *Lemna minor* L. (common duckweed) to ciprofloxacin" autorzy badali reakcje rzęsy wodnej na działanie różnych stężeń ciprofloksacyny. Analizowano wpływ tej substancji na tempo wzrostu, zmiany w przyroście biomasy, zawartość chlorofilu, karotenoidów i węglowodanów rozpuszczalnych w tkankach. Autorom udało się udowodnić, że wzrost stężenia antybiotyku w wodzie, w której rośnie rzęsa wodna powoduje spadek biomasy, hamuje syntezę chlorofilu a, b i karotenoidów, powoduje spadek zawartości sacharozy, oraz wywołuje stres oksydoredukcyjny. Wykazano również, że formą antybiotyku bardziej toksyczną dla rzęsy wodnej jest forma rozpuszczalna w wodzie.

W drugiej publikacji pt. „Content of biogenic amines in *Lemna minor* (common duckweed) growing in medium contaminated with tetracycline” autorzy badali reakcje rzęsy wodnej na różne stężenia tetracykliny. Badano wpływ tej substancji na tempo wzrostu, zmiany w przyroście biomasy, zawartość chlorofilu a i b, karotenoidów oraz wybranych amin biogennych. Wykazano, że tetracyklina hamuje syntezę chlorofilu a i b, powoduje spadek biomasy i tempa wzrostu, ponadto wpływa na znaczący wzrost stężenia wybranych amin biogennych w tkankach. Natomiast wzrost stężenia tej substancji nie wpływa na zmiany stężenia karotenoidów.



W trzeciej publikacji pt. „Uptake of chlortetracycline by yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) growing under photoperiod or at constant darkness” autorzy badali zawartość chlorotetracykliny w siewkach łubinu rosnącego na podłożach zawierających różne stężenia tego antybiotyku. Porównywano również zawartość tego związku w tkankach roślin rosnących w ciemności i w fotoperiodzie. Zaobserwowano znacznie mniejsze gromadzenie chlorotetracykliny w roślinach eksponowanych na światło, również w tych roślinach odnotowano niższą aktywność enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej. Zarówno w roślinach utrzymywanych w ciemności jak i eksponowanych na światło zanotowano aktywność wyżej wymienionych enzymów, co może świadczyć o szoku oksydacyjnym wywołanym działaniem chlorotetracykliny.

W czwartej publikacji pt. „Kształtowanie się cech morfologicznych i biochemicznych łubinu żółtego rosnącego na glebie zanieczyszczonej chlorotetracykliną w warunkach fotoperiodu i ciemności” autorzy badali wpływ chlorotetracykliny zanieczyszczającej glebę na wybrane cechy morfologiczne oraz aktywność peroksydazy i katalazy w korzeniach i łodygach łubinu żółtego rosnącego w warunkach fotoperiodu i w ciemności. Wykazano, że chlorotetracyklina obecna w glebie powodowała zwiększenie ciśnienia osmotycznego i zmieniała aktywność peroksydazy i katalazy, natomiast nie wpływała na badane cechy morfologiczne.

W publikacji piątej pt. „Role of decarboxylases in biochemical pathway of biogenic amines of pea (*Pisum sativum* L.) growing in soil contaminated with lomefloxacin”, autorzy oceniali wpływ lomefloksacyny na wybrane cechy morfologiczne, takie jak zawartość amin biogennych i aktywność enzymów biorących udział w syntezie amin biogennych, oraz potencjał osmotyczny. Wykazano, że wzrost stężenia lomefloksacyny w podłożu powoduje zahamowanie elongacji korzeni i łodyg siewek grochu, powodując również spadek świeżej masy, oraz wywołuje wzrost ciśnienia osmotycznego w łodygach. Wzrost stężenia tego związku w podłożu powoduje również wzrost stężenia amin biogennych w korzeniach i łodygach, jak i wzrost aktywności katalazy i peroksydazy, zwłaszcza w korzeniach. Szczególnie wrażliwym na zanieczyszczenie gleby lomefloksacyną okazała się dekarboksylaza ornityny, której aktywność wzrosła 18-krotnie. Autorzy zasugerowali, że enzym ten może być wykorzystywany, jako marker zanieczyszczenia gleby lomefloksacyną.

Podsumowując, każda publikacja stanowi spójną, logiczną całość i może funkcjonować, jako samodzielna praca. Eksperymenty przeprowadzone w każdej z prac zostały zaplanowane i przeprowadzone prawidłowo z zastosowaniem umiejętności zaadoptowanych, standardowych metod. Należy również zwrócić uwagę, że autor



zapropował nową, alternatywną metodę badawczą. Wyniki eksperymentów dobrze opisano, przedyskutowano i podsumowano. Wszystkie prace są napisane starannie, poprawnie, w przejrzysty i zrozumiały sposób. Zwraca uwagę duży nakład pracy, jaki został włożony w ich przygotowanie.

Zbiór publikacji składających się na dysertację został opatrzony wstępem, który rozpoczynają streszczenia w języku polskim i angielskim. Streszczenia są napisane prawidłowo i omawiają wszystkie najważniejsze osiągnięcia prac składających się na dysertację. Jednak w opisie pojawiają się bardzo długie zdania, które wpływają na jego przejrzystość.

Wstęp jest zwięzłym omówieniem współczesnej literatury światowej dotyczącej problemu zanieczyszczenia gleby i wody przez leki stosowane w medycynie weterynaryjnej i biochemicznych reakcji obronnych roślin na substancje toksyczne. Literatura jest zacytowana obszernie i prawidłowo.

Jedynie do części „Hipoteza badawcza i cel badań” mam uwagi. Na stronie 18 brak mi wyraźnie postawionego celu głównego, spinającego cele szczegółowe. Ponadto cel pierwszy jest nieprawidłowo sformułowany. Celem nie może być: „... zbadanie wpływu antybiotyku na zahamowanie tempa wzrostu i zmniejszenie przyrostu biomasy...”. Celem może być: „...zbadanie wpływu antybiotyku na zmiany tempa wzrostu i zmiany przyrostu biomasy...”. Ta sama uwaga dotyczy drugiego celu opisanego na stronie 19. W ostatnim punkcie na stronie 19 również pojawiła się nieprawidłowość, bowiem celem badań nie może być: „...pomiar potencjału osmotycznego...”, możemy analizować „...zmiany potencjału osmotycznego...”.

„Materiał i Metody” ten rozdział zawiera syntetyczne omówienie metod zastosowanych w każdej z 5 publikacji składających się na dysertację. Mam uwagi do opisu doświadczenia, punkt 6.2.1. na stronie 22. Sformułowania „...zahamowanie tempa wzrostu i zmniejszenie biomasy...” nie powinny znajdować się w opisie metodyki, ponieważ sugerują one już wynik. Natomiast w punkcie 6.2.4. pojawia się określenie, że gleba była zanieczyszczona „...bardzo niskimi stężeniami...,” antybiotyku. Jest to sformułowanie nieprecyzyjne i mające arbitralny charakter, lepiej byłoby napisać, że w doświadczeniu zastosowano „...różne stężenia antybiotyku...”. W punkcie 6.2.5. będącym opisem metodyki wykorzystanej w publikacji 5 brak jest informacji, jaką metodą mierzono potencjał osmotyczny.

„Omówienie publikacji stanowiących rozprawę doktorską” w rozdziale tym Doktorant przedstawił podsumowanie, każdej z publikacji. W zasadzie ta część została przygotowana



prawidłowo, jednak pojawiające się tu błędy gramatyczne i skróty myślowe wpływają na jakość odbioru.

„Wnioski” ta część została przedstawiona prawidłowo. Wnioski podsumowują zarówno poszczególne prace jak i całość dzieła.

Zwróciła moją uwagę również niejednolita nomenklatura stosowana w opisie polskim, raz Doktorant pisze: „biomasa (plon)”, „plon”, „biomasa”, „plon biomasy” lub „biomasa i plon” omawiając tę samą cechę. Jeśli decydujemy się na konkretną nomenklaturę trzeba jej konsekwentnie używać w całej pracy. Opis w języku polskim powinien być starannie wykonany, dużo w nim jest skrótów myślowych, kalek językowych oraz błędów gramatycznych. Chciałam zaznaczyć, że moje uwagi odnoszą się tylko do części polskojęzycznej, w załączonych publikacjach wyżej wymienione błędy nie pojawiają się. Ponieważ te uwagi nie wpływają na moją ocenę merytoryczną dzieła, przykaże je Doktorantowi osobiście. Pomimo niedociągnięć wstępu do pracy doktorskiej w języku polskim, wszystkie prace stanowiące rozprawę doktorską oceniam wysoko. Problem, jaki poruszają jest bardzo istotny dla ochrony środowiska i został on przez Doktoranta zaprezentowany w publikacjach w sposób przemyślany, wyczerpujący i jak na osobę stojącą dopiero u progu kariery naukowej, dojrzały. Zwraca uwagę praktyczny aspekt badań, w których wytypowano rzęsę wodną, jako potencjalny bioindykator zanieczyszczenia wód antybiotykami, jak i zaproponowano nową metodę oznaczania aktywności enzymów biorących udział w biosyntezie amin biogennych niewymagającą zastosowania znakowanych pierwiastków. Mam nadzieję, że podjęty temat będzie kontynuowany w przyszłości przez Doktoranta w jego pracy badawczej.

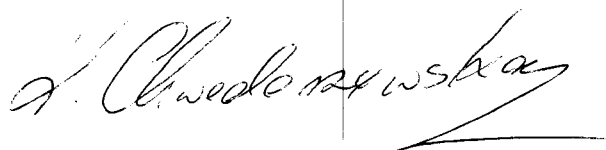
Chciałam pogratulować zarówno Panu mgr inż. Michałowi Baciakowi, jak i całemu zespołowi biorącemu udział w badaniach, szczególnie dwóm Paniom promotor: Pani prof. dr hab. Barbarze Adamos i Pani dr hab. Agnieszce Piotrowicz-Cieślak, prof. UWM tak dobrej merytorycznie, dojrzałej pracy.

Stwierdzam, zatem, że przedłożona mi do oceny praca doktorska Pana mgr inż. Michała Baciaka pt. „Reakcje wybranych roślin na zanieczyszczenie środowiska antybiotykami stosowanymi w medycynie weterynaryjnej” spełnia kryteria dysertacji doktorskich (Ustawa o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003, Dz.U.Nr 64). Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pan mgr inż. Michała Baciaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Chciałabym również zaznaczyć, że moim zdaniem praca ta zasługuje na wyróżnienie przez Wysoką Radę Wydziału.

Katarzyna Chwedorzewska

A handwritten signature in black ink, written in a cursive style. The signature reads "K. Chwedorzewska" and is followed by a long horizontal stroke.