

Prof. dr hab. Piotr Frankiewicz
Katedra Ekologii Stosowanej
Uniwersytet Łódzki

OCENA

pracy doktorskiej mgra inż. Bartosza Bojarskiego

**pt. „Oddziaływanie herbicydów na aktywność wybranych enzymów oraz ultrastrukturę
skrzeli i wątroby ryb”**

Ekosystemy słodkowodne narażone są, w wyniku antropopresji, nie tylko na dopływ ze zlewni pierwiastków biogenicznych, przyspieszających tempo eutrofizacji, ale także wielu toksycznych związków organicznych. Wśród nich środki ochrony roślin stanowią pokąsną grupę związków, których oddziaływanie na biocenozę jest wciąż słabo poznane. Przedstawiona mi do oceny praca doktorska stanowi więc cenny wkład do uzupełniania wiedzy na temat oddziaływania trzech szeroko stosowanych w rolnictwie herbicydów (MCPA, linuronu i pendimetaliny) na organizm ryb. Zbadane zostały zmiany ultrastrukturalne i histopatologiczne w skrzelach i wątrobie karpia poddanych oddziaływaniu niskich stężeń tych herbicydów, jak również ich stan fizjologiczny, mierzony aktywnością wybranych enzymów. Biorąc pod uwagę, jak ważną gospodarczo rybą jest karp, uzyskane wyniki będą zapewne wartościowe dla hodowców, wskazując na konieczność monitorowania stężenia herbicydów w wodach zasilających stawy i poszukiwania metod przeciwdziałania skutkom ich obecności.

Praca obejmuje 188 stron, zawierających, obok tekstu, 107 wysokiej jakości fotografii, 12 rycin i 2 tabele. Cytowana literatura liczy 99 pozycji. Praca doktorska napisana jest poprawnym i jasnym językiem. Została również bardzo starannie przygotowana pod względem edytorskim. Jedyne niedociągnięcia w tym zakresie dotyczą cytowania prac i zostaną wyszczególnione w dalsze części recenzji.

Przechodząc do oceny poszczególnych części rozprawy doktorskiej chciałbym zwrócić uwagę na bardzo dobrze napisany wstęp, w którym doktorant wykazał się świetną znajomością podjętej tematyki badań. Przytoczone liczne przykłady badań, wskazujących na

powszechną obecność herbicydów w ekosystemach wodnych i na negatywne skutki ich oddziaływania na ryby, dobrze argumentują zasadność podjętych badań. Wstęp kończy się jasno przedstawionym celem pracy.

W rozdziale „Materiał i metody” w sposób przejrzysty przedstawiony został dwuetapowy układ badań. Nie budzi wątpliwości wybór badanych herbicydów, jak również wybór skrzeli i wątroby jako organów potencjalnie najbardziej narażonych na oddziaływanie szkodliwych substancji rozpuszczonych w wodzie. Podobnie dobór badanych enzymów, związanych z prawidłowym funkcjonowaniem skrzeli i wątroby, jest jak najbardziej uzasadniony. Metody użyte do badania ultrastruktury skrzeli i wątroby oraz aktywności enzymów są właściwe. W szczególności wykorzystanie dwóch mikroskopów elektronowych: skaningowego i transmisyjnego, pozwoliło uzyskać wysokiej jakości zdjęcia, doskonale ilustrujące negatywny wpływ herbicydów na badane organy. Budzącą wątpliwości częścią rozdziału „Materiał i metody” są analizy statystyczne. Doktorant pisze o zastosowaniu wieloczynnikowej analizy wariancji (MANOVA) do testowania istotności różnic w aktywności wybranych enzymów pomiędzy badanymi grupami ryb, lecz opis ten jest zbyt lakoniczny. Przeprowadzając analizę wieloczynnikową należy przynajmniej wskazać, jakie czynniki niezależne będą brane pod uwagę. Jednak prawdziwy problem polega na tym, że w rozdziale „Wyniki” nie zaprezentowano żadnych rezultatów wieloczynnikowej analizy wariancji. Przedstawiona jest jedynie, dla poszczególnych terminów, istotność różnic średnich wartości aktywności poszczególnych enzymów w grupie kontrolnej oraz w grupie narażonej na dany herbicyd. Skąd wzięła się ta niespójność? A swoją drogą warto byłoby faktycznie przeprowadzić analizę wariancji, najlepiej z powtarzanymi pomiarami, aby sprawdzić istotność zmian w aktywności badanych enzymów, w szczególności ALT i AST, w grupie kontrolnej i w grupach badawczych, w czasie trwania eksperymentu. Co prawda patrząc na wartości odchyłeń standardowych średnich aktywności badanych enzymów, nie sędzę by test Levene’a wykazał homogeniczność wariancji, stąd w większości przypadków należałoby raczej zastosować nieparametryczne odpowiedniki analizy wariancji. Zwracam na to uwagę, bo takie analizy statystyczne będą niezbędne, jeśli praca ma być opublikowana w „impaktowanym” czasopiśmie naukowym.

Jeśli chodzi o wyniki badań, to przedstawione są w sposób przejrzysty, a ich opis można łatwo śledzić dzięki licznym fotografiom i rycinom. Na szczególne uznanie zasługuje przeprowadzona przez doktoranta analiza zmian ultrastrukturalnych, które wystąpiły w skrzelach i wątrobie pod wpływem działania herbicydów. Wysokiej jakości zdjęcia oraz

precyzyjna interpretacja obserwowanych zmian, wskazują na świetne opanowanie warsztatu metodycznego oraz szeroką wiedzę autora z zakresu histologii i histopatologii ryb.

Również wyniki dotyczące zmian w aktywności wybranych enzymów pod wpływem działania herbicydów są bardzo interesujące, choć dla podniesienia ich wiarygodność konieczne byłoby zastosowanie lepiej dobranych metod statystycznych.

Przeczytanie rozdziału „Dyskusja” utwierdziło mnie w przekonaniu, że Doktorant posiada dobrą znajomość literatury przedmiotu oraz, że potrafi umiejętnie i właściwie interpretować uzyskane wyniki badań. Wyciągnięte wnioski są prawidłowe i zgodne z postawionym celem pracy.

Z obowiązku recenzenta chciałbym jeszcze wskazać na kilka drobnych potknięć, które należałoby usunąć podczas przygotowywania publikacji. Nie znalazłem ich zbyt wiele i jak wcześniej wspomniałem, dotyczą one głównie cytowania literatury. I tak:

1. W spisie literatury nie znalazłem 2 prac cytowanych w tekście: Karnavsky, 1965 oraz Marcer i Birbeck, 1970;
2. W tekście nie została zacytowana jedna praca (Kilarski, 2007), znajdująca się w spisie literatury;
3. Pojawiło się także kilka literówek w nazwiskach autorów cytowanych prac:
 - na stronie 17: Butcharim zamiast Butchiram;
 - na stronie 19: Jiraugkoorskul zamiast Jiraungkoorskul;
 - na stronie 145: Dezulfi zamiast Dezfuli;
4. Na stronie 22 wskazano w tekście niewłaściwy rok publikacji: Kamrin, 2007 zamiast Kamrin, 1997, jak poprawnie zapisano w wykazie publikacji.
5. W podpisie pod rycinami: 4, 5, 6, 9, 11 i 12 umieszczona jest informacja, że „*” oznacza istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupą badawczą i kontrolną, chociaż takich różnic w tych przypadkach nie stwierdzono. Przyczyną takiego niedopatrzenia było zapewne kopiowanie i wklejanie podpisów z innych rycin, gdzie istotne różnice występowały.
6. W opisie wyników autor podaje wartości prawdopodobieństwa z sześcioma miejscami po przecinku. Jest to przesadna dokładność. W zupełności wystarczyłoby podać wartości prawdopodobieństwa, jak zwykle się to czyni, z maksymalnie trzema miejscami po przecinku.
7. Doktorant umieścił na końcu pracy wykaz użytych skrótów oraz spis fotografii, rycin i tabel. O ile zebranie w jednym miejscu wykazu skrótów jest wręcz konieczne to pozostałe spisy wydają mi się zupełnie zbędne.

Na koniec chciałbym jeszcze zwrócić uwagę Doktoranta na aspekt badań, który został pominięty w pracy, a byłby bardzo cenny z punktu widzenia ich praktycznego wykorzystania. Dowiadujemy się bowiem w jaki sposób herbicydy wpływają na ultrastrukturę skrzel i wątroby oraz na aktywność wybranych enzymów, brak jest jednak informacji czy to oddziaływanie herbicydów widoczne było także w behawiorze ryb (ruchliwość, tempo żerowania) lub/i w tempie ich wzrostu i kondycji. Zwłaszcza uzyskanie tych ostatnich informacji, niezwykle interesujących z punktu widzenia hodowców ryb, wymagało jedynie zmierzenia i zważenia ryb z każdej grupy doświadczalnej, pobieranych do analiz w trakcie trwania eksperymentu.

Przedstawione przeze mnie niedociągnięcia stwierdzone w pracy doktorskiej mgra inż. Bartosza Bojarskiego w żadnym razie nie zmieniają mojej pozytywnej oceny pracy. Uważam ją bowiem za wartościowy wkład do poznania negatywnego wpływu herbicydów, przenikających do ekosystemów wodnych, na populacje ryb. Mam nadzieję, że moje uwagi pozwolą na dopracowanie pod względem statystycznym uzyskanych wyników i na ich publikację w dobrym czasopiśmie międzynarodowym.

Podsumowując uważam, że przedstawiona mi do oceny praca spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim i stąd wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Geograficzno-Biologicznego Uniwersytetu Pedagogicznego im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie o dopuszczenie mgra inż. Bartosza Bojarskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

