

Prof. dr hab. Agnieszka Płażek  
Katedra Fizjologii Roślin  
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny  
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kraków, 31 maja 2016

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej Pana mgr Piotra Bulaka zatytułowanej ”Wpływ jonów glinu i ołowiu na wybrane parametry biochemiczne i wzrost pszenicy zwyczajnej”

Rozprawa doktorska Pana mgr Piotra Bulaka porusza jak najbardziej aktualny problem zanieczyszczenia środowiska naturalnego jonami metali ciężkich. Z problemem tym zmagają się rolnictwo na całym świecie, ale jak dotąd nie został on rozwiązany. Coraz więcej uwagi przywiązuje się do jakości produktów rolnych, wolnych od zanieczyszczeń metalami ciężkimi, stwarza się specjalne strefy upraw tzw. ekologicznych, w których nie stosuje się środków chemicznych akumulujących się w roślinach i starannie dobiera się miejsca uprawy, odległe od źródeł ewentualnego skażenia. Najwięcej jednak kłopotów jest z usuwaniem toksycznych związków z gleby. Stąd też dużo dyskutuje się na temat tzw. fitoremediacji, czyli uprawy roślin pobierających jony metali ciężkich w wyjątkowo dużych ilościach. Uprawa roślin w ramach fitoremediacji to tylko pierwszy etap oczyszczania gleb, bowiem dalszym problemem jest, co zrobić z roślinami, które te jony pobrały? Każda próba ich utylizacji powoduje ponowne wprowadzenie do środowiska jonów metali. Wiele doniesień literaturowych dotyczy właśnie zmagania z usuwaniem z gleby tego typu zanieczyszczeń. Ich obecność w glebie jest związana z wydobywaniem kopalin na powierzchnię ziemi, stosowaniem związków zawierających jony metali w produkcji pestycydów, nawozów sztucznych, w przemyśle ciężkim, metalurgii itp. Toksyczny wpływ jonów metali, zwłaszcza takich jak żelazo, glin, ołów, miedź, cynk, chrom czy kadm, zaznacza się w procesach metabolicznych, zachodzących na różnych poziomach organizacyjnych rośliny tj. na poziomie systemicznym (w korzeniach, pędach, liściach), oraz przede wszystkim na poziomie komórkowym. Tu należy zaznaczyć, że glin nie jest metalem ciężkim, bowiem jego masa

atomowa wynosi 27, a więc niewiele więcej niż sodu. Glin jednak należy do wyjątkowo toksycznych pierwiastków wywołujących silne zaburzenia we wzroście roślin i zaburzenia metaboliczne. Z drugiej strony, jony niektórych metali ciężkich np. miedzi, żelaza, cynku, molibdenu, manganu czy wanadu w niewielkich ilościach są wręcz niezbędne do prawidłowego funkcjonowania wielu enzymów, zwłaszcza oksydoreduktaz, biorących udział w transporcie elektronów w błonach tylakoidów i mitochondriów, w metabolizmie azotu, syntezie chlorofilu, w budowie fotosystemów w chlorofilu itp. Nadmiar tych jonów jednak hamuje wzrost i rozwój roślin, a także zaburza metabolizm ich konsumentów, czyli zwierząt i ludzi. Ich główne toksyczne działanie polega na inhibicji enzymów poprzez wypieranie jonów innych metali z centrum katalitycznego.

Na pobór jonów metali z gleby wpływa wiele czynników, w tym predyspozycje samej rośliny, a w szczególności odczyn gleby: im niższy, tym silniejszy ich pobór. W swojej rozprawie Pan mgr Bulak omawia skutki wpływu jonów glinu i ołowiu, w zależności od pH podłoża na metabolizm oraz wzrost siewek pszenicy. To, że Autor rozprawy wybrał najważniejszy gatunek rośliny uprawiany na świecie, czyli pszenicę, nie budzi żadnych wątpliwości co do zasadności tej decyzji.

Biorąc pod uwagę powyższe informacje, stwierdzam, że wybór tematu przez Pana mgr Piotra Bulaka jest jak najbardziej trafny i uzasadniony.

### *Ogólne uwagi na temat pracy*

Rozprawa doktorska Pana mgr Piotra Bulaka została zawarta na 184 stronach i rozpoczyna się streszczeniem pracy w języku polskim i angielskim. Spis treści obejmuje 4,5 strony. Zawiera wiele punktów i podpunktów nawet czwartego rzędu. Uważam, że numerowanie podrozdziałów, które często zawierają tylko kilka zdań, jest niepotrzebne i wystarczyłoby je wyróżnić jedynie w tekście bez zamieszczania ich w spisie treści. W trzecim punkcie zatytułowanym „Cel pracy” niesłusznie Autor zawarł tylko jeden podpunkt 3.1. „Szczegółowe cele”, bowiem nie podzielił tekstu na przynajmniej dwa podpunkty. Jest to często spotykany błąd, polegający na tzw. nielogicznym podziale rozdziałów. Podpunkt ten powinien być zatem pominięty w Spisie treści, a jedynie wyszczególniony w tekście.

Praca zawiera 10 głównych rozdziałów: Przegląd literatury, Hipotezę badawczą, Cel pracy, Założenia eksperymentów, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusję, Podsumowanie, Wnioski, Literaturę, a na końcu Spis tabel oraz Spis rycin i schematów. W tym podziale treści

pracy zabrakło mi rozdziału, który zazwyczaj nie jest numerowany, ale powinien znaleźć się na początku, a mianowicie objaśnień używanych skrótów. Byłoby to wskazane ze względu na to, że tych skrótów Autor używa na prawdę dużo.

W Spisie treści znalazły się tytuły rozdziałów napisane skrótem. Przykładowo: Doświadczenie I – Al pH 6, Doświadczenie IV: Pb + pH 4, Doświadczenie VII: pH 6 vs. pH 4. Uważam, że takiego formułowania tytułów nie powinno się stosować w oficjalnych tekstach czy dokumentach. Dlaczego nie można było, na przykład, zatytułować tego rozdziału: „Wpływ odczynu pożywki na wzrost siewek pszenicy”?

W rozprawie doktorskiej Pana Piotra Bulaka spotyka się dużo błędów interpunkcyjnych i gramatycznych, polegających głównie na zaczynaniu zdania od „Tak więc”, i „Natomiast”, czy od skrótów np. pH, GPX, CAT, SOD itp. Jednocześnie muszę stwierdzić, że praca jest napisana językiem świadczącym o bogactwie słownictwa Doktoranta, choć niestety w wielu przypadkach używa On słów będących dosłownym tłumaczeniem z języka angielskiego, pomimo, że w języku polskim dane terminy występują. Przykładowo, zostały użyte określenia: „inhibitacja”, „inhibitować” zamiast „inhibicja”, „inhibować” (w kontekście aktywności enzymów najprościej byłoby użyć określenia „hamować” lub „zmniejszać aktywność”), „kultywar” zamiast odmiana. W tym ostatnim przypadku należy wspomnieć, że język angielski rozróżnia pojęcie odmiany botanicznej (*variety*) od odmiany rolniczej (*cultivar*), jednakże w polskim słownictwie nauk rolniczych używamy słowa „odmiana”. Ponadto w tekście jest sporo niezręczności językowych lub stosowania nieadekwatnych określeń takich jak: „nadmiarowa energia”, „badanie adresuje zagadnienie”, „aparat antyoksydacyjny” (używamy określenia „mechanizm lub system antyoksydacyjny”), „niskocząsteczkowy aparat antyoksydacyjny” zamiast „niskocząsteczkowe antyoksydanty”, „trend” zamiast „tendencja”, „wpływ na maszynię fotosystemów” zamiast „wpływ na wydajność, (funkcjonowanie) fotosystemów”, sformułowanie „aktywność enzymów występowała”, zamiast „obserwowano zwiększenie aktywności enzymów”. Zdarzają się też takie zdania, jak na przykład: „Aktywność APX jest w zgodzie z badaniami Xu i in...”, zamiast: „Aktywność APX była podobna do obserwowanej przez Xu i in...”.

Zastanawiałam się, skąd się wzięły te sformułowania, skoro Doktorant wykazał się ogromną wiedzą i udowodnił, że jest osobą czytaną w swojej dziedzinie. Należy zaznaczyć, że Pan mgr Piotr Bulak ukończył studia na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (specjalność - Biotechnologia roślin). Być może z racji kierunku tych studiów, posługiwał się wcześniej terminologią z innego zakresu, niż agronomia, a zwłaszcza fizjologia i biochemia roślin. Pisząc swoją rozprawę, musiał zatem,

korzystając głównie z literatury angielskojęzycznej, samodzielnie tłumaczyć niektóre określenia na język polski. Zajrzałam do spisu cytowanej literatury i stwierdziłam, że na 150 pozycji tylko 9 jest polskojęzycznych. Zazwyczaj w recenzjach chwali się doktorantów za przeczytanie dużej liczby artykułów światowych, napisanych przede wszystkim w języku angielskim, ale teraz widzę wyraźnie, jak ta tendencja jednocześnie zmniejsza zasób słownictwa polskiego u młodych naukowców. Piszę to z pewnym żalem, bowiem znajomość języka polskiego jest coraz słabsza nie tylko u młodego pokolenia Polaków, ale kardynalne błędy językowe spotyka się powszechnie w mediach, w Internecie, i to często w artykułach naukowych. Można zatem stwierdzić, że winę za ten stan rzeczy ponosimy my, starsi wiekiem, którzy ulegamy naciskom, by nie publikować swoich prac w języku polskim. System punktacji stosowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, „pogoń” za publikacjami w zagranicznych czasopismach wymusza na nas tego typu postępowanie, ale jak widać, skutkiem tych działań jest fakt, że młodzież nie oswaja się z polską terminologią naukową, lecz przyswaja sobie język obcy, który często jest żargonem laboratoryjnym, technicznym. Oczywiście, zdaję sobie sprawę, że Pan mgr Bulak, jeżeli będzie publikował swoje wyniki w zagranicznych czasopismach, to będzie pisał po angielsku. Moje zatem uwagi mogą jedynie przyczynić się do zachowania poprawności języka polskiego w Jego prezentacjach ustnych np. na konferencjach naukowych, lub też (mam nadzieję) przekaże je następnemu pokoleniu.

### *Szczegółowe uwagi do kolejnych rozdziałów*

#### Przegląd literatury

Rozdział ten jest poświęcony głównie opisowi pszenicy oraz stresowi antyoksydacyjnemu. Dopiero końcowe podrozdziały omawiają problem toksycznego wpływu jonów metali ciężkich oraz kwaśnych gleb. Uważam, że kolejność podrozdziałów „Przeglądu literatury” powinna być inna. Problem występowania kwaśnych gleb i zanieczyszczenia jonami metali ciężkich powinien być umieszczony na początku pracy, następnie powinno się omówić uszkodzenia wywołane przez jony metali i na końcu opisać skutki ich działania, czyli powstawanie stresu oksydacyjnego i jego wpływ na zmiany strukturalne i metaboliczne roślin. Na końcu powinna znaleźć się charakterystyka pszenicy. Tu kolejna uwaga. Autor wielokrotnie używa określenia „wpływ metali”, „oznaczanie zawartości metali w roślinach”,

„pobór metali przez rośliny”. Pragnę zauważyć, że w roślinach nie występują czyste metale, ale jony metali i to one mogą być pobierane przez korzenie, w formie rozpuszczalnej w wodzie.

Pod względem merytorycznym rozdział ten został napisany poprawnie i zawiera wiele cennych informacji, dotyczących występowania stresu oksydacyjnego, rodzaju wolnych rodników i miejsca w komórce, w których są produkowane, przyczyn zakwaszania gleb, wpływu jonów metali ciężkich na metabolizm roślin, oraz sposobów radzenia sobie roślin z nimi, np. poprzez uruchamianie syntezy specyficznych związków (enzymatycznych i nieenzymatycznych „zmiataczy” reaktywnych form tlenu, fitochelatyn czy proliny), akumulację jonów lub ich ekskluzję.

Bardzo trafne było również umieszczenie przez Pana mgr Bulaka rozdziału drugiego: „Hipoteza badawcza”. Pozwoliło to na konkretne ukierunkowanie badań i podanie jasno sformułowanej informacji dla czytelnika, czego rozprawa będzie dotyczyć.

Cel pracy został sformułowany poprawnie i jasno przedstawiono zakres badań w poszczególnych eksperymentach.

#### Material i metody

Rozdział ten zawiera schemat doświadczenia, metody oznaczeń enzymów antyoksydacyjnych, stopnia peroksydacji lipidów, aktywności antyrodnikowej, wyznaczenia świeżej i suchej masy siewek pszenicy, wpływu jonów glinu i ołowiu na wzrost siewek, oraz analizy statystycznej. Na wstępie Doktorant zaznaczył, że zastosowane stężenia soli badanych metali zostały dobrane na podstawie danych literaturowych, dotyczących najczęściej występujących zawartości tychże jonów w glebach uznanych za skażone.

W podrozdziale 5.3 Doktorant użył sformułowania „po skielkowaniu siewki podobnej wielkości, o dobrze rozwiniętych korzeniach zarodkowych i posiadające ok. 1,5 cm załazek pędu...”. Myślę, że Doktorant obserwował raczej długość koleoptyla (pierwszego liścia zarodkowego), a nie załazka pędu. Ogólnie, w pracy sporadycznie występuje określenie „siewka”, które byłoby najbardziej adekwatne do opisu roślin, które poddano wpływowi glinu i ołowiu, i których organy analizowano. Doktorant w całej pracy podaje wyniki długości pędów lub dane parametrów biochemicznych oznaczanych w pędach. Zważywszy, że analizy były prowadzone na 10-16 dniowych siewkach, to raczej chodziło tu o liście.

W podrozdziale 5.8 dotyczącym oznaczenia aktywności antyrodnikowej sformułowano równanie:  $\% = 100 \times (A_0 - A_w)/A_0$ . Jest to nieprawidłowy zapis, bowiem %

jest jedynie wyrażeniem liczby względem innej liczby, a nie poszukiwaną daną, stąd też sugeruję, by obliczany procent inhibicji oznaczyć jakimś symbolem np. I, a procenty dać w nawiasie [%].

Inną dość zasadniczą uwagą jest zastosowanie 24-godzinnego fotoperiodu w badaniu stresu wywołanego jonami metali na wzrost roślin (rozd. 5.17), braku napowietrzenia pożywki oraz obniżenie wilgotności do 40%. Są to również czynniki stresowe. Interpretacja wyników w tym przypadku, dotycząca jedynie wpływu jonów metali, może okazać się trudna. Ponadto, Autor rozprawy informuje, że w badaniu synergistycznego wpływu jonów glinu i ołowiu nastąpiło zmętnienie pożywki, co świadczy o strącaniu nierozpuszczalnych soli glinu, produktów reakcji zachodzącej pomiędzy zastosowanymi solami obu metali. W związku z tym mam pewne wątpliwości, czy Doktorant rzeczywiście badał synergistyczny wpływ jonów glinu i ołowiu, czy wpływ tylko jonów ołowiu, a może raczej badał antagonizm występujący pomiędzy tymi jonami. Może nie trzeba było włączać tego doświadczenia do rozprawy, która przy tak dużej ilości wyników, jaką uzyskano w innych układach eksperymentalnych, absolutnie nic by nie straciła na znaczeniu. Jony z nierozpuszczalnych soli nie są pobierane przez korzenie, a zatem w tym doświadczeniu nie wiadomo, jakie stężenie jonów w pożywce było dostępne dla korzeni. Czy Pan mgr Bulak badał również stężenie jonów ołowiu po reakcji z solami glinu? Skoro sole się wytrąciły, to stężenie jonów metali było zapewne duże mniejsze niż w przypadku dodawania pojedynczych soli. A czy w glebie również dochodzi do strącania soli Al<sup>13</sup>? Może to doświadczenie powinno być przeprowadzone w warunkach wazonowych, tj. w wazonach napełnionych glebą? **Bardzo proszę Doktoranta o wyjaśnienie tego aspektu doświadczenia, zwłaszcza, że w pożywkach z dodatkiem soli obu metali wzrost liści był większy niż w pożywkach kontrolnych lub zawierających pojedyncze sole.**

Muszę jednak zaznaczyć, że pozostałe doświadczenia zostały zaplanowane poprawnie, a do analiz wybrano odpowiednie parametry fizjologiczne i biochemiczne.

W rozdziale 5.18. Pan mgr Bulak opisuje metodę analizy statystycznej wyników. **Proszę Doktoranta o wyjaśnienie następującego stwierdzenia (str. 50); „W przypadku podawania wartości parametrów w wariantach kontrolnych procenty w nawiasach w dniu 13 i 16 oznaczają względną zmianę parametru w stosunku do 10 dnia wariantu kontrolnego”.** Dlaczego parametry oznaczone w 13- i 16-dniowych siewkach miały być porównywane do 10-dniowych, tym bardziej, że wszędzie podawano wartości odpowiednich kontroli?

## Wyniki

Rozdział ten, zajmujący 76 stron, zawiera 99 wykresów, przedstawiających wyniki uzyskane w siedmiu doświadczeniach, dotyczących głównie analiz biochemicznych. Badano aktywność takich enzymów antyoksydacyjnych, jak SOD, katalaza, peroksydaza askorbinianowa, reduktaza glutationowa, reduktaza gwajakolowa, stopień peroksydacji lipidów, świadczący o uszkodzeniu membran cytoplazmatycznych, oraz ogólną aktywność antyoksydacyjną związków niskocząsteczkowych. Wykaz tych analiz świadczy o świetnym przygotowaniu Doktoranta do pracy w laboratorium, znajomości wielu procedur, które wymagają umiejętności obsługi specjalistycznej aparatury oraz zasad przebiegu reakcji chemicznych. Warto zaznaczyć, że wymienione analizy biochemiczne były wykonane we wszystkich doświadczeniach badających wpływ jonów glinu i ołowiu w dwóch różnych odczynach pożywek, w doświadczeniu badającym synergistyczne oddziaływanie jonów badanych pierwiastków, jak też wpływu samego odczynu pożywek bez dodania jonów metali. Ponadto, wykonano szereg analiz fizjologicznych parametrów wzrostu roślin w warunkach stresowych. Mierzono długość liści i korzeni siewek, oceniano ich świeżą i suchą masę. Z moich wieloletnich doświadczeń naukowych wynika, że właśnie świeża i sucha masa roślin, rosnących w warunkach stresowych jest najbardziej adekwatnym parametrem, odzwierciedlającym tolerancję na dany stres. Zabrakło mi natomiast w tym rozdziale opisu ewentualnych widocznych objawów ich uszkodzeń pod wpływem jonów badanych metali. **Proszę zatem Doktoranta o udzielenie informacji, czy obserwował jakieś wizualne uszkodzenia lub zewnętrzne różnice pomiędzy siewkami kontrolnymi a traktowanymi jonami glinu lub ołowiu w badanych odczynach pożywek.**

Jak już wspomniałam, wyniki Doktorant przedstawił na 99 wykresach. Oprócz ich tytułu, Autor zawarł na rysunkach zajmującą sporo miejsca, według mnie zbędną informację, czego dotyczą prezentowane dane. Informacja ta jest powieleniem opisu umieszczonego pod wykresem i znacznie zmniejszyła jego obszar, co spowodowało, że różnice pomiędzy wysokością słupków i standardowego błędu są słabo widoczne. Można było ponadto przesunąć skalę na osi OY i zacząć ją od jakiejś większej od zera wartości. Pozwoliłoby na wyraźne przedstawienie różnic pomiędzy danymi.

Wykres 88. przedstawia stopień peroksydacji lipidów w liściach pszenicy pod wpływem wspólnego działania jonów Al i Pb w pożywce o pH=4. Peroksydację lipidów obserwowano jedynie w wyższych stężeniach jonów, ale tylko w 10-dniowych siewkach,

natomiast w starszych roślinach błony cytoplazmatyczne nie uległy degradacji. **Proszę zatem Autora rozprawy o próbę interpretacji tego wyniku.**

Na wykresie 95. została przedstawiona zawartość jonów glinu w liściach siewek rosnących na pożywce o pH=4. Z wykresu wynika, że zawartość jonów glinu przy stężeniu 30  $\mu\text{M}$  i 120  $\mu\text{M}$  była istotnie większa niż w stężeniach 60 i 240  $\mu\text{M}$ . **Czy Doktorant mógłby spróbować wyjaśnić ten wynik?**

Na marginesie, w rozdziale „Wyniki” Pan mgr Bulak według mnie niepotrzebnie do podawanych wartości dodaje znaki plus, mające zaznaczyć ich wzrost, a minus obniżenie. W opisie wyników wyraźnie jest zaznaczone, czy wartość wzrosła, czy się zmniejszyła. W „Dyskusji” zaś (str. 148) spotykamy stwierdzenie: „...aktywność SOD kształtowała się w zakresie -2 do +5% aktywności kontroli”. Sugeruję, by Doktorant podczas pisania publikacji wynik ten sformułował w następujący sposób: „spadek aktywności SOD sięgał do 2% lub też aktywność tego enzymu rosła do 5% w stosunku do aktywności obserwowanej w roślinach kontrolnych”. Zdaję sobie sprawę, że to sformułowanie jest zdecydowanie dłuższe od zaproponowanego przez Doktoranta, ale nie możemy w artykułach naukowych stosować skrótów myślowych.

Należy podkreślić, że do pracy został dołączony ciekawy materiał filmowy, dokumentujący wzrost siewek pszenicy pod wpływem jonów glinu i ołowiu, oraz wpływu samego odczynu pożywki. Sporządzenie tej dokumentacji wymagało dodatkowej pracy ze strony Doktoranta i stanowi nie tylko ciekawe urozmaicenie opisu wyników, ale pozwala obserwować zmiany w tempie wzrostu roślin w warunkach podwyższonej zawartości jonów badanych metali.

## Dyskusja

W tym rozdziale, zajmującym 35 stron, Pan mgr Piotr Bulak szeroko przytacza literaturę, stosownie do omawianego zagadnienia. Świadczy to o Jego dobrym przygotowaniu merytorycznym do problematyki podjętej w rozprawie. Muszę jednak zauważyć, że zwłaszcza w tym rozdziale, widać „techniczne” podejście Doktoranta do gramatyki języka polskiego. W tekście roi się od odwołań do wyników (rysunków), skrótów, często napisanych tłustym drukiem, co zamiast ułatwiać, wręcz utrudnia śledzenie toku myślenia Autora. W zasadzie w rozdziale „Dyskusja” powinna się znaleźć interpretacja wyników i omówienie ich w świetle adekwatnej literatury, natomiast w tej części pracy Pan mgr Bulak powtarza opis wyników, co przy ich dużej ilości znacznie wydłużyło tekst. Zwłaszcza rozdział 7.2.1.



„Zawartość metali w tkankach pszenicy”, w którym został zamieszczony spis danych dotyczących zawartości jonów glinu i ołowiu w korzeniach i liściach siewek, nie powinien znaleźć się w „Dyskusji”. Ponadto, omawiane zagadnienia powinny być przedstawione w tej samej kolejności co w „Wynikach”, natomiast w rozprawie Pana mgr Bulaka, Dyskusja zaczyna się od ostatniego doświadczenia, dotyczącego wpływu pH 6 i 4 na wzrost roślin.

Podrozdział 7.2.3. „Peroksydacja lipidów” jest bardzo obszerny, a dyskusja szybko przechodzi w szczegółowe omawianie aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Oczywiście, słusznie, interpretując stopień peroksydacji lipidów, oznaczany w różnych przeprowadzonych doświadczeniach, Doktorant sięgnął po przebieg zmian w aktywności antyoksydantów, ale następny rozdział 7.2.4. zatytułował „Aktywność enzymów antyoksydacyjnych”, co może sugerować powtórzenie omawianych już wyników. Myślę, że prościej byłoby ująć całe zagadnienie aktywności antyoksydacyjnej tj. peroksydację lipidów, aktywność badanych enzymów antyoksydacyjnych i aktywność niskocząsteczkowych antyoksydantów w jeden rozdział i razem omówić aspekt stresu oksydacyjnego wywołanego jonami metali.

Na stronie 131, Doktorant opisuje, że w pożywce o pH=4 uzyskano większą świeżą i suchą masę korzeni i liści pszenicy w porównaniu do kontroli. Wynik ten, jak podaje Autor rozprawy, jest niezgodny z opisywanymi wynikami w literaturze. **Czy mogę zatem prosić Pana mgr Bulaka o ustosunkowanie się do tego wyniku?**

Na stronie 132 z kolei, Doktorant cytuje badania innych naukowców wykazujące, że obniżenie aktywności SOD w chloroplastach jest niekorzystne, ponieważ dochodzi do większej produkcji RFT, a skutkiem tego jest zmiana syntezy węglowodanów. **Ponieważ informacja ta jest bardzo ciekawa, bardzo proszę o wyjaśnienie, o jakiego rodzaju zmianę tu chodzi? Czy jest to zmiana ilościowa, czy jakościowa? A jeżeli jakościowa, to które cukry są syntetyzowane w większej ilości?**

W „Podsumowaniu” Doktorant twierdzi, że reakcja badanych siewek pszenicy na synergistyczny wpływ jonów obu badanych metali ma charakter idiosynkrazy, czyli reakcja ta jest odmienna od reakcji na działanie jonów pojedynczego metalu. W świetle poruszanego wcześniej przez mnie problemu wytrącania się jonów glinu z roztworu pod wpływem soli ołowiu myślę, że stwierdzenie to jest za mało udokumentowane, a zwłaszcza w aspekcie zastosowanej metodyki tego eksperymentu, raczej nieuprawnione.

Wnioski

W tym rozdziale Pan mgr Bulak zawarł trzy wnioski ogólne (podzielone na podpunkty) i osiem wniosków szczegółowych. Wnioski szczegółowe są jednak tylko dość specyficznym podsumowaniem wyników, polegającym na uszeregowaniu pod względem wielkości lub aktywności badanych parametrów w poszczególnych doświadczeniach.

Pozwolę sobie w tym punkcie na chwilę refleksji. Otóż zauważam dwie główne szkoły pisania wniosków. Jeden sposób to podsumowanie wyników pisane w czasie przeszłym (w stylu: „jakiś czynnik zwiększył masę albo ją zmniejszył”). Druga szkoła, to formułowanie pewnych stwierdzeń w czasie teraźniejszym w trybie oznajmującym. Na przykład: „Niskie pH pożywki zmniejsza świeżą masę korzeni badanej odmiany pszenicy”. Ten ostatni sposób uogólnia występowanie danego zjawiska.

W rozprawie Pana Bulaka widzę wpływ tej pierwszej szkoły, aczkolwiek muszę podkreślić, że we wnioskach ogólnych została podjęta próba wytłumaczenia obserwowanych procesów. Na przykład, we wniosku pierwszym Doktorant tłumaczy silną peroksydację lipidów w liściach siewek, rosnących w kwaśnym środowisku, niewystarczającym działaniem systemu antyoksydacyjnego. Z kolei wzrost suchej masy korzeni i liści siewek rosnących w pożywce o pH=4 tłumaczy silną aktywacją peroksydazy gwajakolowej. **Rozumiem, że w świetle wielu wyników, które Doktorant uzyskał w siedmiu doświadczeniach, trudno jest wyciągnąć tylko kilka wniosków, ale prosiłabym jednak, by Pan mgr Bulak spróbował podać dwa najważniejsze wnioski, które byłyby konkluzją całego badania.**

#### Literatura

W spisie cytowanych publikacji znalazło się 150 pozycji. Jak już wspomniałam na wstępie recenzji, większość z nich jest anglojęzyczna. Cytowane artykuły zostały dobrze wybrane przez Doktoranta i w pełni pokrywają cytowane informacje. Tylko w dwóch miejscach popełniono pomyłkę, nie zachowując kolejności alfabetycznej lub chronologii według lat wydania publikacji.

#### *Konkluzja recenzji*

Pan mgr Piotr Bulak wykonał szereg doświadczeń i analiz, poszukując odpowiednich parametrów charakteryzujących reakcję siewek pszenicy na stres wywołany jonami glinu i ołowiu. Doktorant wykazał się dobrym przygotowaniem merytorycznym oraz znajomością

licznych technik laboratoryjnych. Wyniki, które uzyskał, przedyskutował szeroko w oparciu o liczne publikacje naukowe, prawidłowo dobrane do omawianego zagadnienia. Mimo licznych usterek edytorskich pracy, oceniam rozprawę jako dobrą i spełniającą wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wniosuję zatem o dopuszczenie Pana mgr Piotra Bulaka do dalszej procedury związanej z obroną pracy oraz nadaniem Mu stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie Agronomia.

A. Pęc