

prof. dr hab. Ryszard Gołdyn  
Zakład Ochrony Wód  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu  
ul. Umultowska 89  
61-614 Poznań  
tel. 061-829-5781  
e-mail: [rgold@amu.edu.pl](mailto:rgold@amu.edu.pl)

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Adama Żaka pt. „Rola metabolitów wtórnych w oddziaływaniach pomiędzy wybranymi grupami bałtyckich cyjanobakterii i glonów”, wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Alicji Kosakowskiej w Instytucie Oceanologii Polskiej Akademii Nauk w Sopocie**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Adama Żaka zawiera 197 stron maszynopisu, 22 rysunki oraz 45 tabel. Składa się ona z części wstępnej, która oprócz wprowadzenia w zagadnienie metabolitów wtórnych i zjawisko allelopatii, zawiera przegląd literatury na temat oddziaływań allelopatycznych między różnymi grupami organizmów oraz cel dysertacji i zakres badań, z rozdziału dotyczącego materiałów i metod badań, wyników, dyskusji oraz wniosków. Na zakończenie przedstawiony został obszerny spis literatury zawierający 214 pozycji oraz streszczenie pracy. Jest to więc układ typowy dla prac naukowych.

Recenzowana praca dotyczy ciągle jeszcze słabo poznanego problemu oddziaływań allelopatycznych wybranych gatunków planktonowych sinic, bruzdnic, okrzemek i zielenic na dwa gatunki planktonowe (*Chlorella vulgaris* i *Phaeodactylum tricorutum*), trzy gatunki roślin (rzęsę drobną, fasolę mung i soczewicę jadalną) oraz kilka gatunków bakterii i jeden gatunek grzyba. Przetestowano w niej także cytotoksyczne oddziaływanie ekstraktów metabolitów wtórnych cyjanobakterii z hodowli oraz z wody morskiej na komórki nowotworowe koczodana zielonego i człowieka.

Autor do swych testów wybrał czyste, akseńiczne szczepy sinic i glonów, by uniknąć niepożądanego oddziaływania metabolitów bakterii. Trzeba podkreślić, że badania prowadzone na szczepach akseńicznych są dużo bardziej pracochłonne niż na szczepach niesterylnych. Metabolity wtórne do dalszych badań autor otrzymywał z hodowli 14 i 30-dniowych poszczególnych gatunków sinic i glonów, po ich dokładnym odfiltrowaniu. Do badań analizujących aktywność biologiczną metabolitów używał on wyciągów metanolowych z podłoży pohodowlanych oraz z wody morskiej, pobieranej w rejonie południowego Bałtyku. Wszystkie testy wykonywane były w stałych warunkach laboratoryjnych (temperatura, oświetlenie). Każdorazowo odniesieniem była próbka kontrolna, do której zamiast filtratów pohodowlanych dodawano podłoże hodowlane. Wybór metod został przeprowadzony

prawidłowo, choć w ich opisie nie znalazłem informacji, czy poszczególne testy były wykonywane w powtórzeniach (rozdz. 2.6).

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów okazały się niejednoznaczne. Ten sam gatunek sinic czy glonów zwykle inaczej oddziaływał we wczesnej fazie wzrostu, inaczej w fazie stacjonarnej. Różnice były też związane z ilością zastosowanego ekstraktu (a więc ilością metabolitów wtórnych) oraz składem pożywki hodowlanej. Tego typu dane mogą być frustrujące dla badacza, ale mogą być też inspirujące. W przypadku mgr Żaka okazały się bardzo cenne, gdyż w oparciu o wcześniejsze doświadczenia własne oraz dobrą znajomość literatury przedmiotu pozwoliły mu przeprowadzić bardzo wnikliwą dyskusję, wyjaśniającą większość stwierdzonych faktów. W kilku jednak przypadkach nie znalazł on wyjaśnienia, wskazując wówczas, że rozwiązanie danego problemu wymaga przeprowadzenia dalszych badań. Jest to cecha wnikliwego badacza przyrody, który rozwiązując jeden problem, widzi już kilka następnych, czekających na swe rozwiązanie. Niektórych pojawiających się kwestii w trakcie badań podjął się wyjaśnienia już w obecnej dysertacji. Stąd zapewne wielowątkowość pracy, stanowiąca o jej ważnym znaczeniu dla rozwoju nauki. Przykładem może być kwestia zawartości chlorofilu-a w komórkach glonów poddanych działaniu metabolitów wtórnych. Okazało się, że ilość ta wyraźnie wzrasta w komórkach zielenicy *Chlorella vulgaris*, natomiast maleje w przypadku okrzemki *Phaeodactylum tricornutum*. Dotyczyło to zarówno stężeń chlorofilu w próbce, jak i w przeliczeniu na zawartość w jednej komórce. Obniżenie zawartości chlorofilu-a u okrzemki było stosunkowo łatwe do wyjaśnienia – metabolity przyczyniły się do zaburzenia mechanizmu syntezy tego barwnika. Znalazło to potwierdzenie w danych literaturowych. Zwiększenia produkcji chlorofilu pod wpływem metabolitów wtórnych dotąd nie stwierdzano. Autor podjął się dogłębnego wyjaśnienia tego zagadnienia, badając reakcję fotosystemu II na oddziaływanie metabolitów wtórnych. Okazało się, że ilość związanej energii, pomimo wzrostu ilości chlorofilu-a, pozostaje na poziomie wariantu kontrolnego, gdyż pod wpływem metabolitów dochodziło do spadku wydajności funkcjonowania fotosystemu II, głównie na etapie przekazywania pozyskanej energii na łańcuchach przenośników i wykorzystania jej w procesie fotosyntezy. Autor odkrył więc nowy mechanizm przystosowawczy zielenicy do negatywnego oddziaływania metabolitów innych organizmów – zwiększały one produkcję barwnika fotosyntetycznego, by utrzymać produkcję pierwotną na dotychczasowym poziomie.

Oprócz stymulowania lub hamowania wzrostu różnych badanych taksonów fitoplanktonu pod wpływem metabolitów wtórnych innych taksonów, autor uzyskał też ważne informacje na temat produkcji związków biologicznie aktywnych, oddziałujących na bakterie, grzyby i komórki nowotworowe. Szczególnie nowatorskie były badania związane z wpływem żelaza na produkcję różnego typu metabolitów. Ważne okazało się też uzyskanie informacji o

dość powszechnym wytwarzaniu sideroforów przez komórki sinic, okrzemek czy bruzdnic. Wiadomość ta pozwoliła autorowi na sprecyzowanie wniosku, że biodostępność jonów żelaza nie limituje produkcji pierwotnej w Morzu Bałtyckim. Pomimo bowiem okresowych bardzo niskich stężeń żelaza w wodzie, powszechna możliwość produkcji związków kompleksujących przez organizmy fitoplanktonowe pozwala w wystarczającym stopniu zaopatrywać się w ten mikroelement. Może jedynie zmieniać się okresowo struktura fitoplanktonu, jako odpowiedź na optymalne stężenie żelaza w wodzie. Warto podkreślić, że doktorant po raz pierwszy odkrył produkcję sideroforów z grupy kwasów hydroksamowych przez cyjanobakterie *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhii* i *Dolichospermum lemmermannii*, bruzdnice *Alexandrium ostenfeldii*, *Prorocentrum minimum* i *Heterocapsa rotundata* oraz okrzemki *Phaeodactylum tricorutum*, *Skeletonema marinoi*, *Thalassiosira pseudonana* i *Chaetoceros wighamii*.

Z obowiązku recenzenta jestem zobligowany do wskazania również uchybień, stwierdzonych w pracy. Trzeba przyznać, że znalazłem ich niewiele, głównie o charakterze edytorskim. Zdarza się autorowi używać pleonazmów, np. „w okresie czasu”, czy „rozwój organizmów żywych” (str. 1). Są też przejęzyczenia i drobne pomyłki, np. *Nostoc* to oczywiście rodzaj, a nie rodzina (str. 6). W przypadku używania nazwy nieokreślonego gatunku np. *Lyngbya* sp. lepiej mówić o taksonie, nie o gatunku (Tabela 1.2, 1.3). Rząd *Alismatales* należy do klasy *Liliopsida* a nie *Magnoliopsida* (Rys. 2.3). Podpisy rysunków powinny być u ich dołu, nie u góry (Rys. 3.6B, 3.9). Nie wiadomo która wartość chlorofilu jest prawdziwa – w tekście ( $14\ 981\ \mu\text{g}/\text{dm}^3$ ) czy na rysunku ( $1498\ \mu\text{g}/\text{dm}^3$ ) (str. 115 i Rys. 3.9). Brak spacji w nazwach gatunkowych np. *Bacillussilvestris* (str. 147). *Nota bene* gatunek ten w 2009 r. został przemianowany na *Solibacillus silvestris* (Rheims *et al.* 1999) Krishnamurthi *et al.* 2009, comb. nov.

Są to wszystko potknięcia marginalne, nie wpływające na merytoryczną wartość pracy. Jak starałem się wykazać wyżej autor dysertacji przeprowadził bardzo wnikliwe, wielotorowe badania nad znaczeniem metabolitów wtórnych sinic i glonów planktonowych żyjących w południowym Bałtyku na rozwój, produkcję chlorofilu-a, funkcjonowanie fotosystemu II, a wreszcie na cytotoksyczność w stosunku do bakterii, grzybów i komórek nowotworowych. Wyniki tych badań mają bardzo ważne znaczenie naukowe, gdyż wyjaśniają wiele dotąd nieznanych lub niejasnych zależności zachodzących w toni wodnej. Mają też ważne znaczenie praktyczne, gdyż wyjaśniają mechanizmy powstawania zakwitów wody, a przede wszystkim – mogą przyczynić się do powstania lekarstw przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych i antynowotworowych.

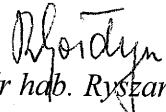
Podsumowując, praca została poprawnie zaplanowana, jasno sprecyzowane zostały cele i hipotezy badawcze, wykorzystano w niej z dużą starannością sprawdzone metody badawcze,

uzyskując bardzo interesujące wyniki, ważne zarówno z poznawczego, jak i praktycznego punktu widzenia. Wnikliwa analiza tych wyników przy wykorzystaniu metod statystycznych oraz szeroka dyskusja z danymi literaturowymi sprawia, że zaprezentowane wnioski są bardzo wartościowe, gdyż wnoszą nowe dane do rozwoju nauki oraz stanowią punkt wyjścia do dalszych badań.

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim, zgodnie z art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Z tego względu wnoszę o dopuszczenie jej autora mgr Adama Żaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na duże znaczenie poznawcze wyników badań, nie tylko w odniesieniu do wpływu metabolitów wtórnych sinic i glonów planktonowych na rozwój innych gatunków planktonowych lecz także w wyjaśnieniu mechanizmów obronnych w stosunku do destrukcyjnego oddziaływania metabolitów, odkrycie produkcji sideroforów u licznych gatunków fitoplanktonu oraz wkład w poznanie cytotoksyczności metabolitów wybranych gatunków – wnoszę o wyróżnienie rozprawy mgr Adama Żaka odpowiednią nagrodą.

Poznań, 12 stycznia 2016 r.

  
prof. dr hab. Ryszard Gołdyn