

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Adama Żaka n.t.

„Rola metabolitów wtórnych w oddziaływaniach pomiędzy wybranymi grupami bałtyckich cyjanobakterii i glonów”

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Adama Żaka, zatytułowana „Rola metabolitów wtórnych w oddziaływaniu pomiędzy wybranymi grupami bałtyckich cyjanobakterii i glonów” dotyczy bardzo ważnego nie tylko biologicznie, ale przede wszystkim ekologicznie zagadnienia odnoszącego się do oddziaływań międzypopulacyjnych. Oddziaływania te zwykle mają charakter zależności troficznych, choć obok nich istnieje cała gama oddziaływań niotroficznych, wśród których istotną rolę odgrywa zjawisko allelopatii. Zjawisko to znane było już w starożytności, jednak mechanizm jego został opisany dopiero w XX wieku i wówczas to do nauki wprowadzono pojęcie allelopatii, które zostało zdefiniowane w 1996 roku na Międzynarodowym Kongresie Towarzystwa Allelopatycznego jako proces, w który zaangażowane są metabolity wtórne produkowane przez rośliny, glony, bakterie i grzyby, mające wpływ na rozwój biocenoz. Dobrze jest ono rozpoznane w naukach rolniczych i w leśnictwie, zaś w hydrobiologii zaczęto się min interesować poważniej i głębiej dopiero w ostatnich dwóch dziesięcioleciach. Tak więc w tym zakresie jest to domena otwarta z wieloma wyzwaniem. Z jednym z tych wyzwań zmierzył się w swojej pracy doktorskiej mgr Adam Żak.

Praca doktorska mgr Adama Żaka stanowi obszerne studium nad rolą metabolitów wtórnych w oddziaływaniach allelopatycznych wśród populacji bałtyckich sinic i glonów. Celem pracy było, jak precyzuje to autor:

- określenie rodzaju interakcji pomiędzy różnymi grupami organizmów fitoplanktonowych, przede wszystkim relacji między wybranymi cyjanobakteriami a glonami jednokomórkowymi;
- opracowanie układu doświadczalnego umożliwiającego kompleksowe badanie tych interakcji w warunkach laboratoryjnych oraz optymalizację warunków hodowli;
- zbadanie oddziaływań pomiędzy wybranymi organizmami z odniesieniem do warunków panujących w Morzu Bałtyckim, z wykorzystaniem eksperymentów semilaboratoryjnych na bazie naturalnej wody morskiej;
- określenie aktywności biologicznej pozyskanych wydzielin pozakomórkowych zawierających metabolity wtórne produkowane przez cyjanobakterie i mikroglony.

Tak postawione cele spowodowały, że zakres pracy jest bardzo obszerny i wielowątkowy. Obejmuje on dociekania poznawcze ale i badania metodyczne. Materiał doświadczalny obejmuje kilkanaście gatunków. Pochodzą one z kolekcji Instytutu Oceanologii PAN w Sopocie, ale większość została pozyskana z różnych kolekcji tak krajowych jak i zagranicznych. Do zastosowanych technik eksperymentalnych nie mam zastrzeżeń. Zostały

one zresztą bardzo dokładnie opisane w pracy, co jest ważne dla ewentualnego przeprowadzenia ich falsyfikacji. Przeprowadzono ponadto niezbędną obróbkę statystyczną.

Maszynopis przedstawionej pracy jest obszerny. Obejmuje on łącznie prawie 200 stron. Struktura pracy jest typowa dla rozpraw doktorskich. Rozpoczyna się ona „Wstępem”, zajmującym 26 stron maszynopisu, w którym autor omawia zjawisko allelopatii i wszelkie konsekwencje, szczególnie ekologiczne, z niej wynikające. W oparciu o lekturę tego rozdziału można powiedzieć, że doktorant dobrze jest osadzony w problematyce populacyjnych oddziaływań niefitocyjnych. Przeszedł on od naświetlenia zjawiska allelopatii poprzez charakterystykę różnych wybranych form oddziaływań międzypopulacyjnych do przedstawienia wiedzy na temat tego zjawiska w Morzu Bałtyckim. Następnym rozdziałem obejmującym ponad 20 stron to opis materiału doświadczalnego i zastosowanych metod badawczych. Godna podkreślenia jest tu duża dokładność i precyzja w opisywaniu przyjętych i po części także specjalne zaadoptowanych na własne potrzeby metod doświadczalnych. Następnym bardzo obszernym rozdziałem obejmującym ponad 100 stron to „Wyniki”. Są one przedstawione w 7 blokach. Pierwszy blok obejmuje opis wyników jakie autor uzyskał z doświadczeń laboratoryjnych, gdzie testował różne kombinacje oddziaływań wydzielin pozakomórkowych sinic i glonów jednokomórkowych na testowane dwa gatunki, zielenicy *Chlorella vulgaris* i okrzemki *Phaeodactylum tricorutum*. Drugi blok dotyczy badań semilaboratoryjnych. W badaniach tych autor stosując naturalną wodę morską jako medium, przeprowadził badania nad wpływem wydzielin pozakomórkowych okrzemki *Phaeodactylum tricorutum* na wzrost i produkcję chlorofilu a gatunku *Nodularia spumigena*, sinicy tworzącej toksyczne zakwity w Bałtyku. Dwa kolejne bloki dotyczą omówienia wyników przeprowadzonych testów nad wpływem wydzielin pozakomórkowych testowanych gatunków sinic i glonów na wzrost wybranych trzech gatunków roślin wyższych. Kolejne trzy bloki dotyczą testowania aktywności biologicznej ekstraktów pozyskanych z monokultur badanych sinic i glonów oraz wody morskiej.

Dyskusja zawarta na 24 stronach stanowi dokładne omówienie przeprowadzonych badań z odniesieniem uzyskanych wyników do danych z literatury. Tok rozumowania i wysunięte uogólnienia świadczą o obszernej wiedzy na temat analizowanego zagadnienia oraz także wskazują na dobrze opanowane umiejętności analitycznego wnioskowania. Ostatnim merytorycznym rozdziałem w pracy są wnioski, które udało się zmieścić na jednej stronie maszynopisu. Są one sformułowane syntetycznie i na pewnym poziomie ogólności, co z pewnością nie było łatwe wobec bardzo bogatego materiału badawczego. Pracę kończy wykaz literatury, który zajmuje 10 i pół strony maszynopisu. Licząc 20 pozycji na stronie, cytowanych jest więc ponad 200 publikacji, w przeważającej większości opublikowanych w ostatnim piętnastolecu w renomowanych czasopismach naukowych.

Praca przygotowana jest sumiennie, napisana przystępnym językiem, ubogacona tabelami i poglądowymi wykresami-diagramami dobrze i czytelnie przygotowanymi. Zakradło się jednak kilka niedoróbek edytorskich o różnej wadze jakościowej, a mianowicie:

str. 1 – numeracja winna obejmować całość maszynopisu, zaczynając od strony tytułowej;

str. 8, 14 wiersz od dołu – czy związki mogą odpychać („odpychając”) mikroorganizmy;

- str. 9 – w główce tabeli 1.1. jest błąd; winno być chyba tak jak jest w tabeli 1.2.
- str. 17, 9 wiersz od dołu – nazwa gatunkowa *P. parvum* jeżeli tu jest użyta po raz pierwszy w tekście winna być rozwinięta;
- str. 22, 10 wiersz od dołu – rodzaj *Spirogyra* nie obejmuje glonów jednokomórkowych;
- str. 24, 5 wiersz od góry – „wirusa opryszczki typu 1”, chyba typu 1;
- str. 27 – ostatnie słowo na tej stronie chyba winno być –antynowotworowym-;
- str. 29 – na rys D nie widać *Chaetoceros*, a to co jest to chyba *Skeletonema*;
- str. 31 i 32 – winno być wskazane źródło przedstawionej taksonomii, bo inaczej można uważać, że jest to propozycja własna, a jeżeli tak to chętnie z autorem podyskutuję;
- str. 36 – szkoda, że nie ma mapki rozmieszczenia stacji; łatwiej to sobie wyobrazić;
- str. 105 – podrozdział 3.1.19 – zamieszczone w tym podrozdziale jedno zdanie w formie autorytatywnej jest dla odbiorcy zbyt lakoniczne; stwierdzenie to winno być czymś udokumentowane;
- str. 109, w podpisie tabeli 3.6B – nazwę gatunkową pisze się z małej litery;
- str. 167, 8 wiersz od góry – „w niniejszej pracy nie obserwowano degradacji cząsteczek chlorofilu”, to jest błąd stylistyczny; jeżeli niniejszą pracą jest przedstawiony ten maszynopis, to trudno aby w nim można cokolwiek obserwować;

Ponadto niestety jest jeszcze kilka innych niedoróbek tekstowych, takich jak literówki czy żargonowe uproszczenia jak na str. 180, 4 wiersz od góry „Istnieją jednak dane literaturowe, że związek....” albo „W przypadku ekstraktu z *M. aeruginosa* wywoływała w badanych...” ponadto na str. 183 w czwartym wniosku chyba chodzi o gatunek donora a nie o konkretny organizm, czyli konkretny osobnik. Widać wyraźnie, że zabrakło sił doktorantowi na wnikliwe, wielokrotne czytanie swojego maszynopisu, gdyż wraz z przybywającymi stronami zwiększa się ilość literówek i pojawiają się nawet błędy gramatyczne, jak na ostatniej stronie (196) „Badania semilaboratoryjnych wykazały, że”

Wytknięte powyżej niedoskonałości mają charakter edytorski i w niczym nie umniejszają niepodważalnych walorów poznawczych przedstawionej pracy. Jest to z pewnością praca pionierska w swoim zakresie merytorycznym. Porusza wiele aspektów, a niektóre z nich wychodzą nawet poza zakres tytułu rozprawy. Mam na myśli testy wykonane na wybranych gatunkach roślin naczyniowych oraz odnoście do aktywności biologicznej, szczególnie antybakteryjnej, antygrzybiczej oraz antynowotworowej. Szczególnie te ostatnie otwierają nowe pola badawcze. Ze względu na te walory wnioskuję o wyróżnienie tej rozprawy.

Podstawą do mojego wniosku o wyróżnienie są następujące, konkretne osiągnięcia:

Po raz pierwszy wykazano aktywność o charakterze sideroforów, związków transportujących żelazo ze środowiska morskiego do komórek mikroorganizmów, w wydzielinach

pozakomórkowych bałtyckich sinic i glonów jednokomórkowych. Stwierdzono produkcję sideroforów z grupy kwasów hydroksamowych, przez bałtyckie sinice: *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhii* i *Dolichospermum lemmermannii*, bruzdnice: *Alexandrium ostenfeldii* i *Prorocentrum minimum* oraz okrzemki: *Heterocapsa rotundata*, *Phaeodactylum tricornerutum*, *Skeletonema marinoi*, *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros wighamii*.

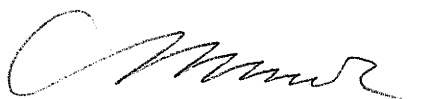
Ponadto stwierdzono aktywność związków typu sideroforów z grupy kwasów hydroksamowych także w próbkach w wody morskiej ze strefy przybrzeżnej Zatoki Gdańskiej oraz z otwartego rejonu Bałtyku Głębi Gdańskiej, odpowiednio podczas zakwitnięcia cyjanobakterii oraz dominacji okrzemek w zespole planktonowym.

Wykazano, że metabolity pozakomórkowe okrzemki *Phaeodactylum tricornerutum* mogą modyfikować wzrost populacji toksycznej sinicy *Nodularia spumigena* oraz wpływać na biodostępność jonów żelaza oraz jonów fosforanowych dla tego gatunku.

Wykazano aktywność antybakteryjną (bakteriobójczą i bakteriostatyczną) wydzielin pozakomórkowych monokultur sinic: *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhii*, *Dolichospermum lemmermannii*, bruzdnic *Alexandrium ostenfeldii*, *Prorocentrum minimum* i okrzemek *Phaeodactylum tricornerutum*, *Skeletonema marinoi* i *Chaetoceros wighamii* oraz w próbkach w wody morskiej ze strefy przybrzeżnej Zatoki Gdańskiej, Zatoki Pomorskiej, Ujścia Wisły oraz w próbkach wody z otwartego rejonu Bałtyku Głębi Gdańskiej, Głębi Gotlandzkiej, podczas zakwitnięcia lub dominacji w zespole planktonowym cyjanobakterii i/lub okrzemek i/lub bruzdnic.

Wykazano aktywność cytotoksyczną (antynowotworową) wydzielin metabolitów wtórnych monokultury *Microcystis aeruginosa* oraz w próbkach wody morskiej ze strefy brzegowej Bałtyku Południowego podczas zakwitnięcia cyjanobakterii w stosunku do linii komórkowej VERO i k562.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiony mi do recenzji maszynopis mgr Adama Żaka w pełni spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595, z późn. zm.). i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Oceanologii PAN o dopuszczenie mgr Adama Żaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



(prof. Marcin Pliński)

Gdynia, 14.01.2016