

Prof. dr hab. Andrzej Skoczowski
Uniwersytet Pedagogiczny
im. Komisji Edukacji Narodowej
Instytut Biologii, Zakład Fizjologii Roślin
Ul. Podchorążych 2
30-084 Kraków

Kraków, dnia 10 lipca 2018 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Agaty Romany Piaseckiej pt. "Wykorzystanie melasy w hodowli wybranych gatunków zielenic (Chlorophyta)"

napisanej pod kierunkiem prof. dra hab. Jerzego Tysa (promotora rozprawy)

oraz

dr Izabeli Krzemińskiej (promotora pomocniczego)

Obecnie większość energii zużywanej na świecie pochodzi ze źródeł kopalnych takich jak ropa naftowa, węgiel czy gaz ziemny. Zasoby kopalnych źródeł energii są jednak ograniczone i wcześniej czy później ulegną wyczerpaniu. Dlatego też coraz częściej pozyskuje się energię ze źródeł odnawialnych takich jak: woda, wiatr, energia słoneczna, geotermalna czy jądrowa. Coraz popularniejsza jako odnawialne źródło energii staje się także biomasa. Tak zwane klasyczne alternatywne źródła energii mają ogromny potencjał dla samego procesu pozyskania energii, ale nie zastępują zapotrzebowania na paliwo płynne konieczne do transportu drogowego i lotniczego. Tu otwiera się furta dla badań nad paliwami alternatywnymi, zwanymi również biopaliwami. Mogą to być paliwa stałe, ciekłe lub gazowe powstałe z przetwórstwa biomasy roślinnej, takie jak: biodiesel, bioetanol czy biogaz. Biopaliwa są przyjazne dla środowiska jako nietoksyczne, biodegradowalne, a otrzymane z nich spaliny zawierają mniej związków siarki oraz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Obecnie głównym źródłem biodiesla jest rzepak, soja, kukurydza, olej palmowy oraz kokos. W ostatnich latach za obiecujące źródło biopaliwa zostały uznane glony. Z biomasy glonów można uzyskać kilka różnych rodzajów biopaliw: biometan, biodiesel, bioetanol oraz fotobiologicznie produkowany biowodór.

Produkcja biodiesla z glonów ma zarówno zalety, jak i wady. Zaletami glonów jest szybkie tempo wzrostu, duża zawartość oleju w biomacie; fakt że mogą być hodowane w miejscach wykluczających możliwość prowadzenie rolnictwa konwencjonalnego; dodatkowe korzyści w postaci możliwości wykorzystania hodowli do bioremediacji ścieków oraz pochłanianie CO₂ ze spalin emitowanych z elektrowni zasilanych paliwem kopalnym. Pomimo tylu zalet produkcja biopaliwa z glonów, okazała się na dzień dzisiejszy bardzo kosztowna. Olbrzymi nakład inwestycyjny na uruchomienie hodowli glonów oraz energochłonne etapy otrzymywania biodiesla z glonów utrudniają wdrożenie produkcji tego typu paliwa na większą skalę. Dlatego tak ważne są obecnie prace nad ulepszeniem technologii zarówno samej hodowli glonów, jak i późniejszej produkcji biopaliw. W ten trend wpisują się badania Doktorantki nad możliwością wykorzystania, nieszkodliwych dla środowiska odpadów organicznych lub produktów ubocznych z produkcji rolniczej, do podniesienia wartości użytkowych hodowli glonów. Z tego punktu widzenia badania Doktorantki uznać należy za uzasadnione i wartościowe.

Praca mgr Agaty Piaseckiej liczy 126 stron i ma układ typowy dla prac doktorskich. W pracy zamieszczono 22 ryciny, 7 tabel oraz 201 pozycji bibliograficznych cytowanych w pracy. Już na wstępie muszę zaznaczyć, że pozycje bibliograficzne są bardzo dobrze dobrane, aktualne oraz, co bardzo ważne, dobrze cytowane.

W rozdziale „Wykaz skrótów zastosowanych w pracy” pewnych skrótów można by nie wyjaśniać gdyż ich znaczenie stało się już absolutnie jednoznaczne. Mam tu na myśli takie skróty nazw chemicznych jak np. ATP, NADPH czy nawet RuBisCO, a w przypadku metod badawczych takie oczywiste skróty to HPLC, GC oraz FT-IR. Autorka wprowadza np. skrót LA jako zastępujący nazwę kwas linolowy (z ang. linoleic acid) podczas gdy w pracy posługuje się zupełnie inną konwencją zapisu nazw kwasów tłuszczowych (w cytowanym przypadku jest to zapis C18:2). Ponadto, na stronie 17 Doktorantka ponownie wyjaśnia znaczenie większości objaśnionych już skrótów (np. TAGs, MCFAs, LCFAs itd.). Mogę się jedynie domyślać, że Doktorantce chodziło o objaśnienie skrótu liczby mnogiej np. TAGs a nie TAG (jak w wykazie). Takie podejście do objaśniania skrótów nie jest oczywiście błędem tyle tylko, że wyjaśnianie skrótów nazw, które w pracy nie są często lub wręcz sporadycznie używane utrudnia czytelnikowi dotarcie do tych skrótów, które są ważne z punktu widzenia zrozumienia tekstu. Jest to zatem uwaga czysto techniczna – na przyszłość.

Na stronie 17 Autorka twierdzi, że „wśród wielonienasyconych kwasów tłuszczowych najczęściej spotykane są pochodne kwasów palmitynowego i stearynowego ... (C18:2 i C18:3)”. Mam nadzieję, że wymienienie w tym zestawieniu kwasu palmitynowego to przypadkowy błąd.

W podrozdziale 1.4 „Strategie odżywiania glonów i przebieg podstawowych procesów metabolicznych” (strona 23) Autorka starając się w maksymalnym skrócie opisać przebieg procesu fotosyntezy nie ustrzegła się błędnych sformułowań. Mianowicie w fazie ciemnej fotosyntezy energia zmagazynowana w postaci cząsteczek **ATP** (a nie ATP i NADPH jak napisano) zostaje wykorzystana w **reakcji redukcji** kwasu 3-fosfoglicynowego (3-PGA) do aldehydu 3-fosfoglicynowego (3-PGAld). Drugim miejscem wykorzystania ATP w fazie ciemnej jest proces regeneracji akceptora dwutlenku węgla – 1,5 RuBP (a nie regeneracji dwutlenku węgla – jak w tekście). **NADPH** w fazie ciemnej fotosyntezy **stanowi nośnik wodoru** umożliwiającego proces redukcji 3-PGA do 3-PGAld, a nie źródło energii jak można wyczytać w pracy. RuBisCO katalizuje reakcję przyłączania CO₂ do 1,5-RUBP, a nie reakcję wytwarzania kwasu 3-fosfoglicerynowego (powstawanie kwasu 3-fosfoglicerynowego jest dopiero efektem rozpadu nietrwałego 6-cio węglowego związku powstałego z przyłączenia, przy udziale RuBisCO, CO₂ do 1,5-RUBP). I dalej, akceptor CO₂ odtwarzany jest z 5. cząsteczek aldehydu 3-fosfoglicerynowego, a nie jednej, a do „wyprodukowania” jednej cząsteczki heksozy musi zostać związanych w cyklu Calvina-Bensona 6 cząsteczek dwutlenku węgla, a nie (jak napisano) „cząsteczka dwutlenku węgla musi zostać związana 6-krotnie”. To naprawdę nie to samo.

W rozdziale 1.6 „Regulacja metabolizmu wtórnego glonów” (strona 27) Doktorantka dość powierzchownie podchodzi do zagadnienia wpływu stresu środowiskowego na metabolizm roślin. Nie tłumaczy co oznacza użyte w pracy pojęcie „stresu komórkowego”. Ja wiem, że przedmiotem badań Doktorantki nie był wpływ stresu abiotycznego na metabolizm glonów, ale jak już zdecydowała się omawiać wpływ warunków środowiska na skład biochemiczny komórek glonów to oczekiwałbym nieco dokładniejszego wprowadzenia do problematyki stresu środowiskowego u roślin. Nawiasem mówiąc pisanie o **badaniu składu biochemicznego** jest trochę przesadzone. *De facto* Doktorantka bada głównie zmiany zawartości białek, węglowodanów, lipidów oraz kwasów tłuszczowych. To za mało aby mówić o zmianach składu biochemicznego jako takich. Przecież Doktorantka nie analizuje

składu białkowego, węglowodanowego czy lipidowego, nie mówiąc już o innych składnikach komórki roślinnej. Nie mam o to do Doktorantki pretensji bo nie musiała tego robić zakładając inny profil badań. Ale w takim przypadku napisałbym wprost o wpływie warunków środowiska na zmiany zawartości białek, węglowodanów itd. ale nie na skład biochemiczny.

W wyżej wymienionym rozdziale Autorka zawarła kilka niezbyt trafnie sformułowanych zdań. I tak, zdanie mówiące że, cytuję dosłownie, „w warunkach stresu zwiększa się ogólna zawartość lipidów, ale również zmienia się ich skład, zmianom podlegają w szczególności skład i struktura profilu kwasów tłuszczowych” nic mi nie mówi. Nie wiem co Doktorantka ma na myśli pisząc „**skład i struktura profilu kwasów tłuszczowych**”? Nie wiem też co Autorka ma na myśli pisząc o syntezie przez glony (w warunkach stresowych) „**niespecyficznym produktów metabolizmu wtórnego**”. Nie chodzi mi o sformułowanie „metabolity wtórne” bo wiem co to są za związki ale dlaczego mają być niespecyficzne nie mam pojęcia. Nie znalazłem też wyjaśnienia na czym ma polegać funkcja ochronna triacylogliceroli w warunkach stresowych. Wzrost zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych w lipidach w warunkach wysokiej (czy też podwyższonej) temperatury (strona 28) wyjaśniono już w latach 60-tych ubiegłego wieku. Zmiany proporcji pomiędzy kwasami nasyconymi i nienasyconymi u roślin (w tym u glonów) na skutek zmian temperatury otoczenia wynikają przede wszystkim z konieczności utrzymywania odpowiedniej płynności błon biologicznych. Nasycone kwasy tłuszczowe powodują usztywnienie błony podczas gdy nienasycone upłynnienie. W zależności od temperatury zmienia się zatem wartość tzw. stosunku U/S (unsaturated/saturated fatty acids). W temperaturach wysokich wartość tego stosunku maleje (maleje bowiem wartość licznika, a rośnie wartość mianownika), natomiast w temperaturach niskich wartość U/S rośnie (wzrasta wartość mianownika, a maleje licznika).

W rozdziale 2 „Hipoteza badawcza i cel pracy” nie bardzo rozumiem podział na metody chemiczne i spektroskopowe (strona 39 - drugi cel szczegółowy). Czy np. badania wykonane z wykorzystaniem spektrofotometru UV-VIS są chemiczne czy spektroskopowe? Czemu nie napisać np. klasycznymi metodami analizy ilościowej oraz przy wykorzystaniu nieniszczącej techniki FT-IR? Ale to są drobiazgi.

W rozdziale 3.1.3 „Warunki hodowli glonów” na stronie 44 Autorka napisała, że w trakcie trwania hodowli wstępnej „intensywność” światła wynosiła 80 $\mu\text{moli fotonów na m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ podczas gdy na stronie 45 informuje, że hodowle stacjonarne prowadzono przy ciągłym oświetleniu o „natężeniu” światła 80 $\mu\text{moli fotonów na m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Mam świadomość, że Doktorantka może uznać, że recenzent czepia się szczegółów, ale obrona odbywa się w Instytucie Agrofizyki PAN (z naciskiem na „fizyki”) więc albo liczba $\mu\text{moli fotonów na m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ to jednostka intensywności czy natężenia światła. Tu nie ma miejsca na synonimy.

Mam też do Doktorantki pytanie czym kierowała się prowadząc hodowle na świetle ciągłym. Nie twierdzę, że nie można prowadzić hodowli na ciągłym świetle, niemniej są to dla glonów warunki afizjologiczne. Jaki był więc powód takiego układu eksperymentu?

W rozdziale 3.2.5 „Przygotowanie mieszaniny estrów metylowych kwasów tłuszczowych” (strona 51) opisana procedura jest generalnie poprawna. Pewien niepokój recenzenta budzi fakt, że Autorka nie odparowuje wyekstrahowanych LZE pod N_2 (a przynajmniej tego nie podaje). Odparowywanie LZE w warunkach tlenowych może bowiem wpływać na stopień nienasycenia zawartych w tej frakcji kwasów tłuszczowych.

W podrozdziale 3.2.7 „Oznaczanie zawartości węglowodanów metodą antronową” (strona 51) Doktorantka powołuje się na pracę Rodríguez i in. z 2017 roku. To nie jest prawidłowe powołanie się na opis metody, albowiem antronowa metoda oznaczania cukrów została opisana przez G. Ashwell w 1957 roku (Colorimetric analysis of sugars, in Methods in Enzymology, Vol. 3. 481 Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. Ed., Academic Press, New York, pp. 73-105), a zatem 60 lat przed Rodríguezem i współpracownikami. Przy cytowaniu prac dotyczących **kluczowych** metod stosowanych w pracy konieczne jest przywołanie najpierw pracy twórcy (lub twórców) oryginalnej metody, a następnie prac opisujących ewentualne modyfikacje tej metody. Wymaga tego przede wszystkim szacunek dla „kolegów po fachu”, którzy zostawili po sobie istotny dorobek naukowy, z którego korzystamy do dziś. Drugim powodem dla którego nie należy opierać się na ostatniej napotkanej pracy, w której ktoś zastosował interesującą nas metodę, jest możliwość powielenia zawartego w takiej pracy błędu. Doktorantka może mi wierzyć na słowo, że udało mi się kilkakrotnie wykryć w publikacjach naukowych błędy wynikające z tak bardzo popularnej (i co tu kryć) bardzo wygodnej metody „kopiuj – wklej”. Kończąc ten wątek mam nadzieję, że Autorka czyje że

mam racją, bo na stronie 50 sama lepiej zacytowała metodę ekstrakcji lipidów opisaną przez Bligha i Dyera. Piszę „lepiej” bo jednak należało najpierw zrobić odwołanie do oryginalnej pracy ww. autorów z 1959 roku (Bligh E. G., Dyer W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917) a nie odwoływać się od razu do pracy Widjaja i in. z 2009 roku.

W podrozdziale 3.2.9 „Analiza jakościowa za pomocą spektroskopii FT-IR” nie podano sposobu przygotowania preparatu do badań. Proszę zatem o wyjaśnienie tej kwestii. Poza tym sam tytuł podrozdziału jest sformułowany niezręcznie – jeśli **analiza jakościowa** to powinno być podane czego. Przy okazji dobrze byłoby doprecyzować jak obliczano intensywność poszczególnych pików (lub lepiej pasm). Jak bowiem wynika z widm FT-IR przedstawionych na rycinach 19 (A i B) oraz 20 (A i B) pasma (zwłaszcza w zakresie 2400 – 3600 cm^{-1}) nie posiadają wyraźnej (jednakowej) linii bazowej. A zatem, jak ustalono linię zerową?

Przechodząc do części „Wyniki” pragnę zauważyć, że ryciny w pracach naukowych „żyją zwykle własnym życiem”. Oznacza to, że patrząc na rycinę i jej opis powinniśmy otrzymać komplet informacji potrzebny do jej analizy bez konieczności przypominania sobie skrótów, odwołań do tekstu itd. W podpisach pod rycinami podaje się też pełne nazwy łacińskie. Czyli powinno być nie *P. kessleri* a *Parachlorella kessleri*. Oczekiwałbym także każdorazowego wyjaśnienia zawartych w legendzie skrótów. Przy metodzie „kopiuj – wklej” przypomnienie co oznacza np. K, KP, KM czy też KMP nie przysporzyłoby Autorce wiele pracy, a czytelnikowi bardzo ułatwiłoby czytanie. Na rycinach słupkowych Autorka konsekwentnie nie umieszczała opisu osi „x”. To nie jest moim zdaniem poprawne choć oczywiście można się domyślić, że chodzi o „obiekt”, „typ hodowli” czy „traktowanie” - jak Doktorantka woli. Jednak, jeśli na wykresie pokazana jest oś, a jest pokazana, to powinna być nazwana (opisana).

Zarówno w przypadku *Parachlorella kessleri* jaki *Tetrademus obligatus* tytuły rozdziałów, odpowiednio, 4.3 oraz 4.4 są bardzo, kolokwialnie mówiąc, „pretensjonalne”. Autorka opisuje w tych rozdziałach **jedynie** zbadane przez siebie **zmiany zawartości** LZE, białka i węglowodanów – to nie badanie składu biochemicznego komórek. Ale o tym napisałem już wcześniej.

Ponadto mam zastrzeżenia do sformułowań „produktywność LZE”, czy też „produktywność białka” lub „produktywność węglowodanów”. Określenie „produktywność” LZE, białka czy węglowodanów sugeruje, **że jest to cecha LZE, białka lub węglowodanów**. Tymczasem związki te są produkowane przez komórki, a właściwie syntetyzowane w komórkach i same z siebie żadnej cechy „produktywności” nie posiadają. Jeśli już, to „produktywność” jest właściwością komórki. Oczywiście warunki hodowli komórek nie tylko mogą, ale jak pokazała Doktorantka, wpływają na tempo syntezy badanych połączeń chemicznych w komórkach. Trzeba było zatem napisać **tempo, szybkość lub zdolność do syntezy** LZE, itd. Nawiasem mówiąc nie wiem skąd ta nomenklatura znalazła się w tekście pracy bowiem jeśli zajrzeć do sporządzonych przez Doktorantkę streszczeń (zarówno polskojęzycznego i angielskiego) to napisała na o **wzmoczonej** syntezie białek – czyli poprawnie.

W rozdziale 5 „Dyskusja”, w części 5.1 „Wprowadzenie” (strona 87) Autorka napisała że w biomacie komórkowej (właściwie przymiotnik „komórkowej” jest zbędny) „znajdują się lipidy, które pełnią funkcję zapasowe i ochronne w komórce”. Nie wiem dlaczego Doktorantka z uporem godnym lepszej sprawy konsekwentnie marginalizuje w pracy funkcje budulcowe lipidów. Błony lipidowo-białkowe (których trzon stanowią lipidy polarne czyli tzw. dwuwarstwa lipidowa) to *de facto* fundament funkcji życiowych komórki. W tym sensie rola lipidów jest nieporównywalnie ważniejsza od roli ochronnej. Bez błon biologicznych nie byłoby życia w znanej nam formie. To błony lipidowo-białkowe gwarantują integralność protoplastu i budują poszczególne organelle komórkowe. Od stanu fizykochemicznego błon zależy przebieg większości reakcji chemicznych w tym procesie fotosyntezy. Dlaczego Autorka o tym nie pisze nie wiem. Mogę się jedynie domyślać, że główną (a może i jedyną) przyczyną jest ciągle podkreślanie roli lipidów jako gromadzonego w komórkach materiału zapasowego rozpatrywanego przez Doktorantkę pod kątem ewentualnych zastosowań praktycznych. Jeśli się mylę proszę mnie wyprowadzić z błędu, a jednocześnie wyjaśnić mi na czym polegają te funkcje ochronne lipidów, o których Doktorantka pisze po raz kolejny na stronie 93 w rozdziale 5.3.

We wspomnianym już rozdziale 5.3 (na stronie 93) Doktorantka informuje czytelnika, że w dyskusji ogólną nazwą „lipidy” określać będzie od teraz wszystkie związki ekstrahowane w rozpuszczalnikach organicznych oznaczone grawimetrycznie w biomacie komórkowej glonów. **Był to niestety nienajlepszy pomysł**, który wprowadził, moim zdaniem, pewne

zamieszanie do tekstu pracy. Oczywiście Autorka informuje czytelnika o nowym znaczeniu pojęcia „lipidy”, nie rozumiem jednak w jakim celu nadaje w pracy temu pojęciu nowe znaczenie. Gdy pod pojęciem „lipidy” kryje się także chlorofil zabieg jaki zastosowała Doktorantka od razu rodzi problemy, bo już w następnym zdaniu napisała, że „wśród tych związków (czytaj „lipidów” – wtrącenie moje) znajduje się chlorofil” i dalej nowe zdanie: „Chlorofil może stanowić od 1 do 25% lipidów i wszystkich związków ekstrahowanych w rozpuszczalnikach organicznych (tu cytowana praca Su i in. 2008)”. Ponieważ w zdaniu tym jest rozbieżność na „lipidy” i „wszystkie związki ekstrahowane w rozpuszczalnikach organicznych” rodzi się pytanie: chlorofil należy do lipidów czy też nie?

Na stronie 94 czytamy: „Niska akumulacja lipidów w komórkach nie wyklucza jednak możliwości wykorzystania biomasy komórkowej *P. kessleri* i *T. obligatus* do produkcji biopaliw ponieważ czynnikiem warunkującym przydatność biomasy glonów do wytwarzania biopaliw jest produktywność lipidów.” Jakie „lipidy” ma tym razem Doktorantka na myśli? Te „prawdziwe” czy też całą frakcję chemiczną ekstrahowaną rozpuszczalnikami organicznymi. Bo jeśli chodzi o całą frakcję chemiczną ekstrahowaną rozpuszczalnikami organicznymi to słabo widzę wykorzystanie chlorofilu do produkcji biopaliw. Proszę zatem aby Doktorantka wyjaśniła mi powód, dla którego, wprowadzając nową nomenklaturę, tak utrudniła sobie zadanie (domyślam się że w założeniu miało to ułatwić przedyskutowanie uzyskanych w pracy wyników).

W cytowanym powyżej zdaniu pojawia się jednak jeszcze inny problem. Mianowicie Doktorantka napisała, że: „czynnikiem warunkującym przydatność biomasy glonów do wytwarzania biopaliw jest produktywność lipidów”. Co sądzę o sformułowaniu „produktywności lipidów” już napisałem wcześniej, ale tu nie mogę zgodzić się z tezą, iż przydatności tłuszczów roślinnych do produkcji biopaliwa oceniana jest jedynie przez pryzmat ich wydajnej syntezy w komórkach glonów! Doktorantka dobrze wie, bo pisze na ten temat obszerniej na stronie 100, że jednym z najważniejszych problemów w branży biopaliw jest odpowiedni skład kwasów tłuszczowych w oleju roślinnym poddawany estryfikacji. Preferowany produkt w branży paliwowej to taki, który zawiera więcej nasyconych kwasów tłuszczowych, ponieważ kwasy nienasycone ulegają hydrolizie, polimeryzacji oraz pogarszają właściwości biopaliwa.

Na stronie 95 (ostatni akapit) Doktorantka napisała, że w komórkach roślinnych RuBisCO „występuje w wysokich stężeniach, niemniej jednak enzym ten charakteryzuje niska aktywność”. Do tego stwierdzenia mam dwie uwagi. Pierwsza dotyczy sformułowania „stężenie” białka w komórkach. Powiem szczerze, że coraz częściej spotykam się z tego typu sformułowaniami w pracach doktorskich, które miałem dotychczas przyjemność recenzować. Staram się jednak z tym zjawiskiem walczyć bo, jako chemik z wykształcenia, nie mogę pogodzić się ze sformułowaniem stężenie białka w komórce zwłaszcza w przypadku tak bardzo specyficznego białka jakim jest RuBisCO. Białko to właśnie ze względu na swą specyfikę znajduje się wyłącznie w jednym miejscu komórki tj. w chloroplastach. Jeśli mówimy o stężeniu to zakładamy **homogenny rozkład substancji rozpuszczonej (lub zdyspergowanej)** w mieszaninie, a nie alokację tej substancji do niewielkiego obszaru mieszaniny (w tym przypadku do konkretnych organelli komórkowych). Moim zdaniem trzeba mówić tu o zawartości białka w komórkach, a nie o jego stężeniu w komórkach. Jednym ze sposobów wyrażenia stężenia substancji w mieszaninie, jest co prawda tzw. ułamek masowy, zdefiniowany jako stosunek masy danego składnika do masy całej mieszaniny (wyrażonych w tej samej jednostce czyli np. gram/gram). Jest to jednak wielkość bezwymiarowa (niemianowana) i zakłada homogenność mieszaniny. Ja nie uważam jednak komórki za mieszaninę. Mój pogląd jest szczególnie zasadny w przypadku badanych przez Autorkę glonów, gdzie każda komórka stanowi precyzyjnie działający, autonomiczny, organizm. Zachęcam zatem do mówienia o zawartości poszczególnych metabolitów w komórkach a nie o ich stężeniu w komórkach. Moim zdanie jest to bliższe prawdy.

Uwaga druga dotyczy sformułowania że RuBisCO „występuje w wysokich stężeniach, niemniej jednak enzym ten charakteryzuje niska aktywność”. Tu szyć zdanie trzeba odwrócić: enzym ten charakteryzuje **niska aktywność** dlatego też **występuje w komórkach w dużej ilości** co rekompensuje niską aktywność omawianego enzymu.

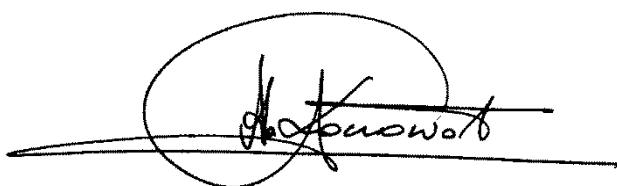
Ponadto w manuskrypcie znalazłem kilka nieścisłości lub niezręcznych sformułowań takich jak: „**Analiza jakościowa komórek** za pomocą spektroskopii FT-IR” (strona 96), „**W dotychczasowej literaturze** nie ma informacji dotyczących profilu kwasów tłuszczowych ...” (strona 98), „o opisanego w literaturze mechanizmu **wzmoczonego powstawania wiązania podwójnego w kwasach tłuszczowych ...**” (strona 99) i kilka innych, których już nie będę przytaczał.

Jeśli chodzi o wnioski końcowe to uważam, że po pierwsze Doktorantka sformułowała ich za dużo, a po drugie, że niektóre z nich przedstawiła w zbyt rozbudowanej formie. Wniosek nie może, a przynajmniej nie powinien zawierać powtórzenia wartości pomiarowych opisanych w części „**Wyniki**”. Na przykład wniosek nr 3 powinien kończyć się po kropce postawionej po pierwszym zdaniu. Wniosek nr 4 powinien być ograniczony do drugiego zdania itd.

Wniosek końcowy

Reasumując przedstawiona mi do oceny praca **mgr Agaty Romany Piaseckiej pt. „Wykorzystanie melasy w hodowli wybranych gatunków zielenic (Chlorophyta)”** spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Zawarte w recenzji uwagi krytyczne nie dotyczą w żadnym stopniu błędów merytorycznych, których obecność mogłaby obniżać wartość pracy. Moja polemika z Doktorantką dotyczy głównie warstwy językowej pracy, a niedociągnięcia językowe i drobne błędy formalne, na które wskazuję, nie wpływają na wartość naukową uzyskanych w pracy wyników.

W związku z tym wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie mgr Agaty Romany Piaseckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'A. Skoczowski', is written over a horizontal line. The signature is enclosed within a large, hand-drawn oval.

Prof. dr hab. Andrzej Skoczowski