



INSTYTUT OCHRONY PRZYRODY

POLSKIEJ AKADEMII NAUK

al. Adama Mickiewicza 33, 31-120 Kraków
tel. 12 370-35-00, 12 632-22-21
e-mail: sekretariat@iop.krakow.pl
NIP 675-000-19-17

Dr hab. Agata Wojtal, prof. Instytutu Ochrony Przyrody PAN

Kraków, 23. 03.2021r.

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ

mgr. Mateusza Rybaka

„Różnorodność taksonomiczna zbiorowisk okrzemek zasiedlających wybrane gatunki drzew na terenach o różnym stopniu zurbanizowania”

Uniwersytet Rzeszowski, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii i Biotechnologii

Promotor: dr hab. Paweł Czarnota prof. UR

Promotor pomocniczy: dr hab. Teresa Noga, prof. UR

Okrzemki (Bacilariophyta) występują w rozmaitych środowiskach wodnych. W rzekach i jeziorach ich różnorodność gatunkowa i granice tolerancji środowiskowej są dobrze poznane. Dlatego okrzemki znalazły zastosowanie w działaniach aplikacyjnych – jako powszechnie stosowane bioindykatory wód płynących i stojących. Przeprowadzone badania koncentrują się natomiast na biotopach lądowych, gdzie dostęp do wody jest bardzo ograniczony w czasie. Gatunki okrzemek tolerujące/preferujące takie warunki są nieliczne, ale też w większości są wciąż mało znane. Różnorodność gatunkowa biotopów lądowych była w Polsce badana w jaskiniach Ojcowskiego PN i glebach np. Podkarpacia, ale w przypadku pni drzew taka analiza jest zupełną nowością. Poświęcenie czasu i żmudnej pracy okrzemkom, które dobrze rozwijają się w tym ekstremalnym dla nich środowisku, zaowocowało ogólnie identyfikacją 160 taksonów, w tym wielu gatunków o dotąd nieznanymi preferencjami autekologicznymi. Uzyskane dane są imponujące i godna podkreślenia jest bardzo wysoka całość dysertacji, w tym jakość zdjęć, bardzo dobre ich zestawienie na tablicach i przede wszystkim poprawna identyfikacja występujących gatunków.

1. Przegląd ogólny rozprawy doktorskiej

Przedmiotem rozprawy jest analiza różnorodności taksonomicznej okrzemek na pniach drzew liściastych. Właściwa identyfikacja gatunków preferujących skrajne warunki środowiskowe wymaga dużego nakładu pracy, ogromnej skrupulatności i dobrego rozeznania taksonomicznego. Warunki te doktorant spełnił w sposób bardzo dobry (lista zidentyfikowanych taksonów wraz z bardzo wysokiej klasy fotografiami wybranych taksonów okrzemek). Doktorant wykonał następnie pracę analityczną związaną z pomiarami parametrów środowiskowych oraz wykonał stosowne analizy statystyczne.

Prezentowane wyniki i ich dyskusja spełniają w pełni warunki do uzyskania stopnia naukowego doktora.

Doktorant podjął się szczegółowej analizy zespołów okrzemkowych występujących na pniach klonu jaworu (*Acer pseudoplatanus*), lipy (*Tilia* ssp.) oraz topoli (*Populus* ssp.), w latach 2017-2018. Przeprowadzone badania skupiały się przede wszystkim na środowiskach miejskich – Stalowej Woli i Rzeszowie (6 stanowisk). Punktami referencyjnymi były dwa stanowiska, w otulinach Gorczańskiego PN (Poręba Wielka) i Magurskiego PN (Krępna). Oceniana praca, licząca 164 strony, przygotowana została według przyjętego kanonu dla dysertacji na stopień naukowy doktora w **zakresie nauk biologicznych**. Praca ta składa się z 7 rozdziałów, obejmujących poszczególne części dysertacji (Wstęp, Opis terenu badań, Materiał i metody badań, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie i Wnioski oraz Bibliografia). Podziękowania i Streszczenie w języku polskim i angielskim znajdują się w początkowej części pracy.

Rozpoczyna ją liczący 6 stron Wstęp, w którym Doktorant przedstawił obecną wiedzę na temat systematyki, biologii okrzemek, morfologii okryw i dotychczasowemu stanowi rozpoznania rozprzestrzenienia okrzemek w środowisku lądowym. Nadzędnym celem badań w recenzowanej pracy doktorskiej była szczegółowa analiza składu gatunkowego, różnorodności, struktury i dynamiki zespołów okrzemek zasiedlających badane pnie drzew. Wyszczególnione przez Doktoranta 5 celów pracy dotyczy opracowania odpowiedniej metodyki badań, identyfikacji taksonomicznej, charakterystyki autekologicznej, wyszczególnienia rzadkich gatunków i analizy ekologicznej badanych biotopów. Wstęp kończy 5 hipotez badawczych uwzględniających zróżnicowanie badanych zbiorowisk okrzemek na poszczególnych stanowiskach, badanych gatunkach drzew, biotopów w obrębie każdego drzewa, ich położenia (wysokość pobierania prób) i danych dotyczących występowania w Polsce zidentyfikowanych taksonów.

W rozdziale drugim (Opis terenu badań) doktorant przedstawia w poszczególnych, bardzo rozszerzonych podrozdziałach charakterystykę całego terenu, geologię, gleby, klimat i zbiorowiska leśne. W kolejnym rozdziale - Materiał i metody badań, opisane i udokumentowane mapami kartograficznymi z WWW geoportal.gov.pl są wszystkie stanowiska (informacja o źródle map została zamieszczona tylko na końcu rozdziału). Począwszy od strony 21 aż do końca pracy są konsekwentnie znaczone tymi samymi kolorami dane dotyczące konkretnych rodzajów drzew (np. *Acer pseudoplatanus* – kolor czerwony). Pełna nazwa łacińska określonego drzewa jest uzupełniona współrzędnymi GPS, czyli szerokością i długością geograficzną. Nazwy te są zastosowane w podpisach rycin. W tekście Doktorant posługuje się wyłącznie nazwami polskimi drzew. Z tego rozdziału dowiadujemy się o sześciu gatunkach drzew użytych w badaniach: *Acer pseudoplatanus* (1), *Tilia platyphyllos*, *T. mordata* (2), *Populus nigra*, *P. alba* i *P. tremula* (3). Materiały badawcze zostały pobrane z każdego badanego drzewa, ze wszystkich dostępnych biotopów pni, na wysokości 20 i 150 cm. Dostępne biotopy zostały bardzo ładnie zaprezentowane na rycinie 11 (naga kora, kora z sinicami, kora z porostami, kora z mszakami). Następnie Doktorant przedstawił metody przygotowania preparatów mikroskopowych, identyfikacji taksonomicznej, metod analiz chemicznych i synekologicznych (wskaźniki Shannon'a, Pielou, Czerwona lista glonów). Grupy ekologiczne

okrzemek zostały wydzielone wg. prac Van Dam i inn. (1994) i Denys (1991). Preferencje ekologiczne obserwowanych okrzemek sprawdzono przez wykonanie analizy wielowymiarowe Canoco: PCA, DCA, RDA.

Najobszerniejszy rozdział Wyniki zajmuje 53 strony tekstu, rycin i tabel i 43 strony załączników. Dostarczone usystematyzowane dane dotyczące odczynu (pH), przewodnictwa elektrolitycznego, zawartości jonów chlorkowych, azotanowych, amonowych, potasu, wapnia, magnezu, jonów siarczanowych i ortofosforanowych w analizowanych przesączach są krótko i przejrzysto przedstawione na 12 rycinach. Wartości pH zostały określone „od lekko kwaśnych do obojętnych”. Przy czym pojedyncze pomiary wykazały odczyn kwaśny – 4,8 (stanowisko 1, X 2018 – 4,8; stanowisko 3, VIII 2017 i stanowisko 8 VI 2017). Odnotowano ogromną rozpiętość zmierzonych wartości przewodnictwa elektrolitycznego: od 49 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Stanowisko 3, VIII 2017, *Acer pseudoplatanus*) aż po 5 846 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Stanowisko 3, X 2018, *Tilia cordata*). Rozpiętość uzyskanych wartości analizowanych jonów była bardzo duża, np. jony azotanowe od wartości $<0,01 \text{ mg l}^{-1}$ (*Acer pseudoplatanus*) aż po 159,270 mg l^{-1} (*Populus* ssp., z wysokości 150 cm). Analiza różnic wartości danych dla prób pobranych z wysokości 20 i 150 cm (test T-Studenta) wykazała istotność w przypadku pH (*Tilia* spp., *Populus* ssp.), NH_4^+ (*Acer pseudoplatanus*, *Populus* ssp.), PO_4^{3-} (*Tilia* spp., *Populus* ssp.), przewodnictwa elektrolitycznego (*Acer pseudoplatanus*) i Na^+ (*Tilia* spp.).

Ważną obserwacją jest odnotowanie braku wystarczającej ilości okrzemek do analizy (poniżej 200 okryw) na stanowiskach referencyjnych, na wysokości 150 cm, na pniach *Populus tremula* (stanowisko 7) i *Tilia cordata* (stanowisko 8). W przypadku kory z zielenicami i porośniętej porostami znaleziono tylko pojedyncze okrywy (za wyjątkiem 3 prób). Najlepszy biotop dla rozwoju okrzemek stanowiły mszaki – do analizy przeznaczono 120 prób). Z ogólnej liczby badanych prób (647) wykonano 1294 preparaty stałe i poddano je analizie jakościowej (160 taksonów) i ilościowej (zliczenia do ok. 400 okryw). Do okrzemek najbardziej zróżnicowanych taksonomicznie należą *Luticola* (34), *Pinnularia* (16) i *Stauroneis* (11). Najbardziej zróżnicowane zbiorowiska okrzemek stwierdzono dla *Populus alba* (stanowisko 6) – 98 taksonów a najuboższe w gatunki okrzemek drzewo to *Acer pseudoplatanus* (stanowisko 8). Strukturę dominacji określono dla 197 prób, z wystarczającą liczbą okrzemek (200-400 okryw). Następnie obliczono wartości wskaźnika Shannona (H'), współczynnika równomierności Pielou (J'), które zostały zestawione w tabelach 10-12. Do okrzemek dominujących (powyżej 10% liczebności) zaliczono 13 gatunków. Wśród nich najwyższą względną liczebność osiągnęły *Luticola acidoclinata* (do 98,8%, mszaki na jaworze), *Orthoseira dendroteres* (ponad 95%, kora jaworu), *Pinnularia borealis* (ponad 95%, naga kora topoli), *Hantzschia amphioxys* (do 93,9%, mszaki na topoli) i *Humidophila contenta* (88,1%, mszaki na topoli). Według tekstu (str. 59) *Hantzschia abundans*, *Humidophila gallica*, *H. perpusilla*, *Luticola ventricosa* MT 1, *Luticola ventricosa* MT 2 i *Luticola* sp. 3 były dominantami na jednym stanowisku (niestety nie znalazłam w Tabelach 13-15, na którym stanowisku). Zamieszczone Tabele 13-15 zawierają szczegółowe dane dotyczące okrzemek dominujących na pniach *Acer pseudoplatanus*, *Tilia* spp., *Populus* ssp. z ośmiu badanych sezonów, z uwzględnieniem badanych biotopów. Dostarczone dane dotyczące odczynu wody, jej stanu troficznego i analizy taksonów zagrożonych (Czerwona lista glonów w Polsce) są krótko i przejrzysto

przedstawione. Dane zobrazowano rycinami 24-33, prezentującymi ogólny udział zidentyfikowanych okrzemek w poszczególnych grupach oraz ich zestawieniem wg. klasyfikacji Van Dam i inn. 1994 i rycinami 34, 35, wg. klasyfikacji Denys (1991). W ogólnym udziale zidentyfikowanych okrzemek w poszczególnych grupach zwraca uwagę liczba taksonów o nieznanym preferencjach (od 48 do 60%). Czyli ponad połowa okrzemek znalezionych na pniach badanych drzew posiada niemal nieznaną autekologię. Znalezienie ich podczas badań przyczynia się więc do lepszego określenia zakresu preferowanych/tolerowanych warunków środowiskowych. Charakterystyka okrzemek w odniesieniu do preferowanych warunków dostępnej wilgotności opiera się na klasyfikacjach Van Dam i inn. 1994 i Denys 1991. Analiza taksonów po raz pierwszy odnotowanych w Polsce (28 gatunków) jest wsparta na tabeli 16, zawierającej podstawowe dane morfologiczne, rozmieszczenie na stanowiskach, występowanie na świecie i literaturę, na której oparto identyfikację. W warunkach ekstremalnych występowania okrzemek występują formy mniejsze niż w opisach gatunków (np. Lund 1965). W omawianej pracy Doktorant wyróżnił siedem (spośród 160) takich taksonów należących do rodzajów *Hantzschia*, *Luticola*, *Muelleria* i *Surirella*.

Do analizy podobieństwa zbiorowisk okrzemkowych zastosowano metodę Warda, która pozwoliła na wyszczególnienie 3 grup. Najmniejszą jest grupa A, zdominowana przez *Orthoseira dendroteres*, występującą przede wszystkim na mszakach zebranych przy podłożu pni *Acer pseudoplatanus*. Drugą grupę – B tworzą próby zebrane też w większości z mszaków pni *Populus* ssp. W odróżnieniu od pozostałych grup odnotowano tutaj zróżnicowaną dominację 11 taksonów okrzemek, z najliczniejszymi populacjami *Pinnularia borealis*. Trzecia grupa – C, zawiera największą liczbę badanych prób – 112, była zdominowana przede wszystkim przez *Luticola acidoclinata*. Jej bardzo wysoką liczebność stwierdzono na mszakach pni *Acer pseudoplatanus*. Principal Component Analysis – PCA, przeprowadzona dla zbadania podobieństwa zbiorowiska na mszakach, potwierdziła te wyniki, wyraźnie wyodrębniając grupy A (głównie z *Populus* ssp.) i D (z prób ze stanowisk referencyjnych 7 i 8 na pniach *Acer pseudoplatanus*). Analiza Detrendent Component Analysis – DCA, dla nagiej kory *A. pseudoplatanus* i *Populus* ssp. wyróżniła dwie grupy, z wyraźnym oddzieleniem prób z *A. pseudoplatanus* zdominowanych przez *Orthoseira dendroteres*.

Mgr Rybak we właściwy sposób zaprezentował i skrupulatnie zilustrował na rycinach tabelach i zdjęciach otrzymane wyniki. Wszystkie wyniki zostały opisane z dużą precyzją, co wskazuje na ich pełne zrozumienie przez Doktoranta. W rozdziale "Dyskusja" Doktorant porównuje własne wyniki z rozwiązaniami znanymi z literatury. Następnie omawia wyniki dotyczące zbiorowisk okrzemek w kontekście środowiska abiotycznego, opierając się przy tym na wiedzy z publikacji innych autorów. Rozważa preferencje ekologiczne (pH, stan troficzny, wilgotnościowy) dla okrzemek zbiorowisk na pniach badanych drzew. Ta część dyskusji opiera się na porównaniu na klasyfikacji Van Dam i inn. 1994 i Denys 1991 i własnych wyników. Zdaniem Doktoranta system Denys'a (1991) lepiej odwzorowuje preferencje mezofilnych/kserofilnych okrzemek. W pracy zamieszczono też omówienie autekologii okrzemek dominujących. Bardzo skrótowo przypomniano o wynikach analiz Warda, PCA i DCA, cytując jedną publikację dotyczącą preferencji środowiskowych *Luticola ventricosa* MT 2. Kolejne części dyskusji dotyczą różnorodności gatunkowej okrzemek, ich zbiorowisk i indykacyjności oraz stopnia zagrożenia określonych gatunków.

Należy zaznaczyć, że problem okrzemek „lądowych” jest bardzo słabo poznany. Zwraca uwagę bardzo wysoka liczba taksonów w recenzowanej pracy – 160 taksonów. W podanych przez mgr. Rybaka tylko w dwóch pracach, dotyczących okrzemek „nadrzewnych”, podano 18 taksonów (Panama, Gujana Francuska) i 73 taksony (w Chinach). Część wśród badanych przez Doktoranta okrzemek jest składnikiem aeroplanktonu. Należą do nich gatunki nieprzystosowane do długotrwałego niedoboru wody. Niemniej, prawdopodobnie mogą przemieszczać się z wiatrem. Z drugiej strony, często występowały one w postaci uszkodzonych okryw (co jest przenoszone wiatrem? Żywe komórki czy okrywy?).

W Podsumowaniu i wnioskach Doktorant przedstawia najważniejsze rezultaty swojej rozprawy w nawiązaniu do postawionych hipotez badawczych. Stwierdzono zróżnicowanie badanych zbiorowisk okrzemek na poszczególnych stanowiskach - wzrastająca liczba taksonów przy malejącej antropopresji. Niewątpliwie istotnym czynnikiem regulującym zróżnicowanie była wilgotność. Ilość dostępnej wody dla wszelkich organizmów zasiedlających pnie drzew jest zależna od usytuowania (przy podłożu, na wysokości 150 cm), biotopu (np. naga kora/mszaki), tempa wysychania pni (oddzielne czy w zadrzewieniu), części pni (północna/południowa) i oczywiście czasu opadów (dzień/tydzień/miesiąc przed zbiorem prób). Dane dotyczące pierwszego odnotowania z Polski 28 taksonów są godne podziwu. Przy czym dla połowy z nich są to drugie na świecie stanowiska. 13 gatunków jest wpisanych na Czerwoną listę glonów Polski, z czego kilka musi przejść zaznaczoną przez Doktoranta weryfikację.

Rozprawę mgr Rybaka kończy Bibliografia, zawierająca spis 229 pozycji literaturowych cytowanych w rozprawie. Literatura zastosowana przez mgr Rybaka obejmuje zarówno prace polskojęzyczne (20%) jak i obcojęzyczne. Ostatnim rozdziałem pracy są trzy załączniki zawierające listę okrzemek z zaznaczonym występowaniem; wartości parametrów chemicznych i piękną fotograficzną dokumentację wybranych taksonów okrzemek (22 profesjonalnych tablic).

2. Uwagi krytyczne

- Dysertacja jest oparta na wynikach badań taksonomicznych okrzemek stwierdzonych w biotopach (zielenice, porosty, mszaki) pni trzech rodzajów drzew liściastych. Siedlisko jest abiotyczną częścią środowiska.
- Zbiorowiska okrzemek były badane na sześciu gatunkach drzew: *Acer pseudoplatanus*, *Tilia platyphyllos*, *T. cordata*, *Populus nigra*, *P. alba* i *P. tremula*. Dlatego właściwe określenie, zastosowane np. na rycinie 23 jest *Tilia* ssp. i *Populus* ssp. (nie *Tilia* sp. i *Populus* sp. np. w Streszczeniu).
- W Metodach brakuje określenia z której części drzew pochodzą próby (np. z południowej, północnej). Tymczasem dostęp do wody jest decydującym czynnikiem występowania mezofilnych/kserofilnych okrzemek. Okrzemki kserofilne (na korze drzew) mają większą tolerancję czasowych niedoborów wody niż „mezofilni” reprezentanci kęp mszaków. Szkoda, że nie uwzględniono badania wilgotności prób.

- W Wynikach, nieco dziwne wydaje się być porównanie dendrogramu Warda, opierającego się na wszystkich analizowanych próbach do analiz PCA (tylko mszaki) i DCA (tylko naga kora). Czy wykonano też analizę dendrograficzną tylko dla prób nagiej kory i mszaków?

Oczywiście pewne braki metodologiczne są widoczne dopiero przy dyskusji otrzymanych wyników. Dysertacja jest pięknym przykładem skrupulatnej, konkretnej i bardzo czasochłonnej pracy badawczej, napisanej bardzo dobrym językiem. Podjęcie takiego tematu badań w Polsce (i na świecie) na tak dużą skalę zobowiązuje do podziwu dla Doktoranta i Promotorów.

Uwagi końcowe

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Mateusza Rybaka jest oryginalnym rozwiązaniem postawionego problemu badawczego oraz potwierdza szeroką wiedzę Doktoranta i jego umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Zgłoszone przeze mnie uwagi nie umniejszają wartości wyników, a po odpowiedniej modyfikacji praca ta powinna stanowić podstawę cennej publikacji. Rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w artykule 13, ustęp 1 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ.U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie Pana mgr Mateusza Rybaka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Dr hab. Agata Wojtal prof. IOP PAN