



Prof. dr hab. Barbara Pawlik-Skowrońska Lublin, 7.09.2015 r.

Katedra Hydrobiologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Ul. Dobrzańskiego 37

20-262 Lublin

Recenzja pracy doktorskiej mgr Sylwii Śliwińskiej p.t. "Wpływ wybranych czynników środowiskowych na zjawisko allelopatii u bałtyckich sinic *Synechococcus* sp. i *Nodularia spumigena*"

Zjawisko allelopatii w środowisku wodnym jest zagadnieniem budzącym żywe zainteresowanie badaczy ze względu na możliwe jego znaczenie dla czasowo-przestrzennej dynamiki fitoplanktonu – podstawowego poziomu troficznego w ekosystemach wodnych. Interesującym tematem są również substancje produkowane i wydzielane przez glony o wciąż niezupełnie poznanej strukturze i aktywności biologicznej, które są podłożem specyficznych oddziaływań allelopatycznych pomiędzy organizmami żywymi w ich środowisku życia.

Tematem przedstawionej do oceny pracy było zbadanie potencjalnych możliwości oddziaływań allelopatycznych wykazywanych przez dwie sinice powszechnie występujące w ekosystemie Bałtyku tj. pikoplanktonowej *Synechococcus* sp. i mikroplanktonowej, toksynotwórczej *Nodularia spumigena* w stosunku do eukariotycznych glonów (zielenic okrzemek) również wyizolowanych z wód Bałtyku, oraz zidentyfikowanie czynników środowiskowych (zarówno abiotycznych jak i biotycznych) modulujących te oddziaływania.

Ten złożony cel pracy mieści się w światowym nurcie badań nad allelopatią w środowisku wodnym .

Na uwagę zasługuje fakt, że przeprowadzenie badań przedstawionych w pracy było możliwe dzięki wsparciu finansowemu, m. innymi, ze strony Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i Narodowego Centrum Nauki w ramach grantów dla młodego badacza, których kierownikiem była pani mgr S. Śliwińska. Starania o środki finansowe oraz ich pozyskanie świadczą o Jej dużej aktywności i zaangażowaniu w pracę naukową.

Zadania, które w swojej pracy podjęła mgr S. Śliwińska miały charakter eksperymentalny, były ambitne, szeroko zakrojone i obejmowały szereg analiz z zakresu fykologii oraz fizjologii roślin ekosystemów morskich takich jak: ocena wzrostu hodowli glonów, stężenia chlorofilu, ocena aktywności fotosyntetycznej (w tym maksymalnej wydajności kwantowej PS II, tempa wymiany gazowej) z wykorzystaniem nowoczesnych technik analitycznych takich jak spektrofotometria, fluorymetria, polarografia.

Przebieg badań, uzyskane wyniki oraz ich dyskusję doktorantka przedstawiła obszernie i w logiczny sposób na 226 stronach maszynopisu.

Praca została napisana na ogół poprawną polszczyzną (chociaż można zauważyć pewne uchybienia stylistyczne, jak również niezręczności terminologiczne np. cyt. „rozmiar organizmów”, „natężenie napromieniowania”, „wysokie światło”, „w fazie stacjonarnego wzrostu”, etc); zawiera także objaśnienia stosowanych skrótów oraz angielskojęzyczne streszczenie i dwujęzyczne tytuły tabel i podpisy rycin.

Wstęp do pracy to obszerne 33–stronicowe omówienie dotychczasowego stanu wiedzy w zakresie badań nad zjawiskiem allelopatii, zarówno w ujęciu historycznym jak i problemowym. Autorka przedstawiła ogólna charakterystykę zjawiska allelopatii, jednak skoncentrowała się na oddziaływaniach w środowisku wodnym, pomiędzy mikroorganizmami fotosyntetyzującymi, jakimi

są sinice i eukariotyczne glony Bałtyku. Omówiła metody badań, rolę czynników środowiskowych modulujących aktywność allelopatyczną fitoplanktonu, mechanizmy działania związków allelopatycznych, ich znaczenie w ekosystemach wodnych oraz praktyczne wykorzystanie substancji produkowanych przez fitoplankton. Wstęp został wzbogacony w kilka kolorowych rycin, które miały za zadanie przybliżyć to zjawisko czytelnikowi, jednakże na ryc. 1.3.1.1; 1.3.2.1. strzałki które powinny wskazywać kierunek oddziaływań są przedstawione odwrotnie. Ryc. 1.3.2.2 zaczerpnięta z pracy Graneli et al. (2008) niezupełnie prawidłowo oddaje charakter idei autora. Przy zaburzeniu proporcji między N i P dochodzić może do dominacji gatunku produkującego allelopatyki, niekoniecznie jednak do monogatunkowego zakwitu sinic. W zeutrofizowanych zbiornikach zakwity sinic są najczęściej wielogatunkowe. Autorka zaliczając do allelopatyków toksyny jedynie napomyka o zdolności sinic do produkcji szeregu innych metabolitów, jednakże ich nie wymienia, a zostały już dość dobrze rozpoznane. Mam tu na myśli szereg bioaktywnych oligopeptydów, które mogą mieć istotne znaczenie w oddziaływaniach pomiędzy organizmami wodnymi.

Autorka słusznie zauważa, że zjawisko allelopatii środowisku wodnym jest trudne do wykazania, ponieważ sposób działania związków allelopatycznych jest bardzo różnorodny. Nie można jednak zapominać, że w warunkach naturalnych może działać jednocześnie szereg innych czynników utrudniających jego obserwację - chociażby niskie stężenie allelopatyków wynikające z ich rozcieńczenia oraz brak bliskiego kontaktu między mikroorganizmami fitoplanktonu. Czy zdaniem doktorantki allelopatia może mieć większe znaczenie w innych zespołach organizmów wodnych niż fitoplankton?

Przechodząc do oceny rozdziału dotyczącego metodyki należy podkreślić znaczną liczbę obiektów badawczych wykorzystywanych do realizacji celu pracy. Dotyczyły one bowiem zdolności allelopatycznego oddziaływania 3

różnych bałtyckich szczepów sinic z rodzaju *Synechococcus* oraz nitkowatej sinicy *Nodularia spumigena* tworzącej niebezpieczne zakwity wód Bałtyku na 4 gatunki bałtyckich glonów eukariotycznych: 2 zielenic i dwóch okrzemek, o wyraźnie różnicowanej morfologii. Niestety na Ryc.2.1.2 na zdjęciach mikroskopowych nie podano ani powiększenia ani skali, które przybliżyłyby informację o wymiarach komórek .

W swojej pracy autorka zastosowała nowoczesne metody badań adekwatne do zamierzonego celu, jednakże w opisie prowadzonych doświadczeń dają się zauważyć pewne uchybienia. Niezbyt precyzyjnie opisano prowadzeni hodowli badanych mikroorganizmów. Np. nie podano w jaki sposób i w jakich warunkach je prowadzono. Czy były mieszane czy nawietrzne, czy oświetlenie stosowano ciągle czy cyklicznie zmieniające się. Jak wyznaczano konkretne natężenie światła fotosyntetycznie czynnego (miernik, miejsce pomiaru?). Jakie było końcowe zasolenie w podłożach hodowlanych sporządzonych na bazie wody bałtyckiej? Nie wskazano również jakie były stężenia pierwiastków biogennych (N i P) gdy stosowano cyt „niedobór azotanów i niedobór fosforanów”. Czym uzasadnia autorka zastosowanie tak słabego oświetlenia $10 \text{ mikromoli fotonów m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ w eksperymentach z glonami eukariotycznymi. Nie jest to dla nich optymalny dostęp światła . Nie znalazłam również informacji w którym dniu fazy logarytmicznej i stacjonarnej przygotowywano płyny pohodowlane do eksperymentów. Niezbyt zrozumiałe są dane dotyczące liczebności komórek w 1 ml pożywki przedstawione w Tab. 2.4.1..Nasuwa się pytanie w jaki sposób uzyskano tak idealnie równe gęstości komórek w poszczególnych hodowlach i po jakim czasie? W sytuacji gdy spodziewamy się negatywnych oddziaływań na wzrost glonów ocenę wzrostu należałoby oprzeć nie tylko na pomiarach gęstości optycznej hodowli przy 750 nm ale również przy 650 nm, co umożliwiłoby lepsze rozróżnienie wartości absorbancji pochodzących od komórek żywych i od martwych. *N. spumigena* jest sinicą nitkowatą bardzo różniącą się morfologicznie od *Synechococcus*. Nie

jasne jest co autorka miała na myśli pisząc o zagęszczeniu komórek *Nodularia*? Należałoby również podać bardziej precyzyjną ocenę porównawczą hodowli tych 2 sinic o stężeniu chlorofilu a = 0,8 mg/l. Podana przez autorkę gęstość komórek *Synechococcus* była ok. 50 razy wyższa niż *N. spumigena* a nie zbliżona. Praca doktorska może stanowić materiał dydaktyczny dla innych osób zainteresowanych fascynującą tematyką allelopatii w środowisku wodnym, dlatego też dokładne i bezpośrednie informacje metodyczne są niezwykle istotne. Powinny być uzupełnione również ze względu na wymagania publikacyjne.

Wyniki badań przeprowadzonych przez doktorantkę przedstawiono na 43 rycinach i w 26 tabelach. Zostały opracowane i przedstawione na ogół prawidłowo, chociaż zdaniem recenzenta przedstawienie krzywych wzrostu hodowli kontrolnych badanych mikroorganizmów w warunkach różnego natężenia promieniowania fotosyntetycznie czynnego (jednego z podstawowych czynników regulujących rozwój i fizjologię glonów) dałoby możliwość oceny oddziaływania tego czynnika na stan fizjologiczny badanych organizmów wykorzystywanych w eksperymentach z zastosowaniem wydzielin komórkowych. Daje się zauważyć duże zróżnicowanie pomiędzy badanymi gatunkami w maksymalnej kwantowej wydajności ich fotosystemu II (F_v/F_m) w warunkach kontrolnych. Jakim zdaniem doktorantki mogły być tego przyczyny? Czy hodowle kontrolne rozwijały się w jednakowy sposób we wszystkich zastosowanych warunkach świetlnych? Czy tempo wzrostu hodowli było jednakowe? Czy intensywność oświetlenia hodowli $190 \mu\text{moli fotonów m}^{-2} \text{s}^{-1}$ było optymalne dla rozwoju hodowli sinic, czy może hodowle częściowo zamierały co mogło prowadzić do większego uwalniania zawartości komórek która miała negatywny wpływ na aktywność fotosyntetyczną glonów poddanych ich działaniu? Autorka sugeruje, że nodularyna produkowana przez *N. spumigena* nie miała udziału w obserwowanych efektach toksycznych w stosunku do procesu fotosyntezy. Jakim zatem mogły być przyczyny

najsilniejszych efektów allelopatycznych w warunkach najintensywniejszego oświetlenia hodowli. Są to interesujące zagadnienia, które należałoby uwzględnić przy interpretacji uzyskanych wyników.

Generalnie, przedstawione wyniki są zgodne z coraz liczniejszymi danymi literaturowymi dotyczącymi oddziaływań allelopatycznych pomiędzy różnymi gatunkami glonów i wpływem czynników abiotycznych i biotycznych na to zjawisko. Stwierdzono hamujący wpływ płynów pochodzących z sinic bałtyckich na rozwój glonów oraz na proces fotosyntezy. Ważnym osiągnięciem było stwierdzenie potencjalnego działania allelopatycznego pikoplanktonowych sinic z rodzaju *Synechococcus* na *N. spumigena* oraz na glony eukariotyczne, które występują w ekosystemach morskich. Interesujące są wyniki badań wyraźnie wskazujące, że różne gatunki, nawet należące do tych samych grup systematycznych ale różniące się pod względem wielkości komórek, mogą reagować odmiennie na allelopatyki wydzielane przez sinice, co mogłoby w pewnych warunkach prowadzić do zmian w strukturze gatunkowej fitoplanktonu. Godne uwagi są również wyniki badań oddziaływania substancji wydzielanych przez sinice na okrzemki morskie. Badania takie ze względu na trudności hodowlane okrzemek należą do rzadkości. Jednakże wyniki uzyskane w warunkach laboratoryjnych w przypadku stosowania hodowli o dużej gęstości więcej mówią o potencjalnych oddziaływaniach które mogą mieć miejsce w naturze tylko w szczególnych okolicznościach. Czy zdaniem autorki mogą się one ujawnić w takiej skali jak w laboratorium?

Autorka obszernie (na 52 stronach) i poprawnie przedyskutowała oraz zinterpretowała własne wyniki badań na tle najnowszych doniesień literaturowych, korzystając z imponującej liczby 388 pozycji (głównie prac oryginalnych).

Zdaniem recenzenta praca (po odpowiednich uzupełnieniach) stanowi bazę do przygotowania dobrych publikacji w wysoko punktowanych czasopismach.

Podsumowując stwierdzam, że uzyskane wyniki i obserwacje znacząco poszerzają stan wiedzy na temat zjawiska allelopatii w ekosystemie Bałtyku i mogą być odnoszone do innych ekosystemów wodnych. Uwagi i pytania zamieszczone w niniejszej recenzji odnoszące się głównie do rozdziału „Materiał i Metody” nie umniejszają w istotny sposób tej oryginalnej, wartościowej merytorycznie pracy. Uważam, że rozprawa doktorska pani mgr Sylwii Śliwińskiej w pełni odpowiada wymaganiom stawianym przez Ustawę o stopniach i tytule naukowym i zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Oceanografii i Geografii Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Sylwia Śliwińska