

Dr hab. Agata Wojtal, prof. IOP PAN

Instytut Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk
al. Adama Mickiewicza 33
Kraków

Kraków, 06.02.2020r.

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ
magistra Piotra Jerzego Knysaka

**„Wpływ człowieka na ekosystemy źródlane na podstawie różnorodności okrzemek
i ich autekologii”**

Promotor: prof. UŁ dr hab. Joanna Żelazna-Wieczorek

Okrzemki (Bacillariophyta) występują w rozmaitych ekosystemach wodnych, począwszy od źródeł, kończąc na oceanach. Wśród nich są gatunki, które mogą zasiedlać tylko wody czyste, jak i takie, których występowanie jest związane z wodami zanieczyszczonymi. Badania autekologiczne pozwoliły na wyodrębnienie spośród tysięcy gatunków takich, które mają wąskie zakresy tolerancji określonych czynników środowiskowych i dlatego są powszechnie stosowane jako bioindykatory. Są one używane do oceny jakości ekologicznej środowiska, w tym do oceny jakości wód. Źródła niestety należą do najmniej zbadanych siedlisk wodnych pod względem bioty okrzemkowej. Występowanie w nich wielu rzadkich gatunków jest związane z refugialnym charakterem źródeł i wciąż dobrym stanem ekologicznym ich wód. Dzięki przeprowadzonej przez mgr. Piotra Knysaka analizie okrzemkowej możliwa była ocena wpływu człowieka na ekosystemy źródlane.

1. Przegląd ogólny rozprawy doktorskiej

Przedmiotem rozprawy jest charakterystyka zbiorowisk okrzemek (Bacillariophyta) źródeł Polski Środkowej w latach 1999-2018. Oceniana praca, licząca 286 stron, przygotowana została według przyjętego kanonu dla dysertacji na stopień naukowy doktora w zakresie nauk biologicznych. Praca ta składa się z 12 rozdziałów, obejmujących poszczególne części dysertacji (Wstęp, Przedmiot, obiekt i cel badań, Teren badań, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie i wnioski, Streszczenie, Podziękowania, Literatura, Dokumentacja fotograficzna i Aneks). Rozpoczyna ją liczący 6 stron Wstęp, w którym Doktorant przedstawił obecną wiedzę na temat badań źródeł, które wciąż należą do najslabiej rozpoznanych siedlisk wodnych pod względem bogactwa i różnorodności wielu mikroorganizmów, w tym też okrzemek. Analiza wpływu usytuowania badanych trzecio- i czwartorzędowych źródeł odzwierciedla zachowanie naturalnych cech tych 12 siedlisk w Polsce Środkowej. W kolejnej części rozprawy (Przedmiot, obiekt i cel badań) mgr Piotr Knysak opisał w

sposób kompetentny i przejrzysty obiekt swoich badań oraz źródła, będące siedliskami okrzemek. Jasno zostały określone przez doktoranta: hipoteza badawcza, Cel pracy i wynikające z nich pytania. Zaznaczono kolejne etapy pracy, od identyfikacji taksonomicznej okrzemek, po analizę wyników przeprowadzonych analiz. Hipoteza badawcza została następująco sformułowana: „Źródła to ekosystemy o potencjalnie wysokiej stabilności środowiskowej w warunkach antropopresji, zapewniające zachowanie różnorodności gatunkowej okrzemek”. Kolejny rozdział pracy (Teren badań) dotyczy szczegółowej charakterystyki 12 badanych źródeł (położenie w Polsce, geologia i hydrologia terenu badań, i szczegółowy opis poszczególnych źródeł). Dane te zostały ujęte w Tabeli 1. Dodatkowo każde z badanych miejsc zostało sfotografowane (16 rycin). Oszacowanie działalności człowieka na źródła mgr Knysak oparł na czterostopniowej skali Nowickiej-Krawczyk i Żelaznej – Wieczorek. Jej wynik, zamieszczony w tym rozdziale (Tabela 2), wskazuje na najlepsze warunki środowiskowe w Bukowej Górze i najbardziej zmienione antropogenicznie – w Podwódcie i Łągiewnikach. W rozdziale Materiał i metody mgr Knysak dokładnie i jasno opisał stosowane techniki na poszczególnych etapach pracy. Metody wykonania prac terenowych i laboratoryjnych są prawidłowe. W tej części rozprawy zamieszczono tabelę wykazującą lata zbioru analizowanych prób – materiał archiwalny z lat 1998-2014 i bieżący z lat 2016-2018. Następnie podane zostały szczegółowo metody opisu prób, prac laboratoryjnych i metod analizy jakościowej i ilościowej zbiorowisk okrzemek. Użyta do identyfikacji okrzemek literatura jest jak najbardziej właściwa (np. użycie nowej nazwy – *Sellaphora nigri*). Nomenklaturę i przynależność gatunków do rodzajów mgr Knysak zastosował według właściwych i ogólnie przyjętych na całym świecie zasad. Zbiorowiska okrzemek były analizowane pod względem roli poszczególnych gatunków (np. dominanty), określono stałość ich występowania, wykonano analizę skalowania wielowymiarowego (Multidimensional Scaling – MDS) do zbadania związku występowania określonych zbiorowisk okrzemek w czasie (1998-2018) i w poszczególnych źródłach. Badania fizyczno-chemiczne wody poszczególnych źródeł oparte były na określeniu wpływu temperatury wody, jej przewodnictwa elektrolitycznego i odczynu, stężenia np. jonów azotanowych na strukturę zbiorowisk okrzemek, przez zastosowanie analizy głównych składowych (Principal Component Analysis – PCA). Podobieństwo badanych prób oparto na hierarchicznej analizie klastrowej (Hierarchical Cluster Analysis – HCA) i analizie SIMPER, która wskazuje gatunki o największym wpływie na podobieństwo/niepodobieństwo badanych źródeł. Doktorant uwzględnił też autekologię gatunków, opierając się na klasyfikacji Van Dam i inn. (1994) i na programie OMNIDIA (Tabela 6).

Najobszerniejszy rozdział pracy to Wyniki, zawierający usystematyzowane dane na 138 stronach rozprawy doktorskiej, ośmiu planszach z dokumentacją fotograficzną i w trzech aneksach. W tej części zamieszczono bardzo dużo cennych informacji zilustrowanych rycinami i tabelami. Mgr Knysak we właściwy sposób zaprezentował i skrupulatnie zilustrował na rycinach otrzymane wyniki. W dwóch miejscach rozprawy przedstawiono dane pochodzące z wypływów źródeł i z części środkowej źródłiska (Podwódka i Podwierzchowiec). Dostarczone dane dotyczące temperatury i odczynu wody, jej przewodnictwa elektrolitycznego, zawartości tlenu rozpuszczonego w wodzie, stężenia jonów azotanowych, amonowych i ortofosforanowych są krótko i przejrzysto przedstawione.

Tabela 7 dostarcza cennych danych dotyczących wyłącznie ekstremalnych wartości badanych czynników. W kolejnych podrozdziałach pan Piotr Knysak przedstawił wyniki analizy okrzemkowej obejmującej niemal trzysta taksonów okrzemek, występujących od 69 (Łagiewniki) aż po 156 (Podwierzchowiec) rozmaitych taksonów w danym źródle. Wśród znalezionych okrzemek najliczniej były reprezentowane gatunki akcesoryczne i przypadkowe a najmniejszą, jednoprocetową grupę stanowiły eukonstanty dominujące. Do grupy okrzemek absolutnie stałych i dominujących, w całym materiale badawczym należą gatunki należące do niedawna do jednego rodzaju – *Achnanthes*: *Achnantheidium minutissimum*, *Planothidium dubium* i *P. frequentissimum*.

Wytypowano jednak gatunki charakterystyczne dla zbiorowisk okrzemkowych obserwowanych w poszczególnych źródłach. Przeprowadzona analiza głównych składowych (PCA), dotycząca wytypowanych gatunków charakterystycznych i wartości mierzonych czynników fizycznych i chemicznych wody, wskazuje na główny wpływ przewodnictwa elektrolitycznego, odczynu wody i jej temperatury na strukturę zbiorowisk okrzemkowych. Dążąc do odpowiedzi na postawione pytania i weryfikacji przyjętej hipotezy, zostały szczegółowo zbadane zbiorowiska okrzemkowe poszczególnych źródeł. W rozprawie ich charakterystyka zajęła ponad 120 stron tekstu i 166 rycin. Ta ujednoczona część rozprawy zawiera dane dotyczące każdego źródła: liczbę prób, taksonów, ich klasyfikację (udział gatunków i stałość występowania zbiorowiskach), podobieństwo jakościowe i ilościowe (analiza klasterowa i analiza SIMPER), zróżnicowanie zbiorowisk w sezonach i latach badań (MDS – 3D i 2D), oraz ich autekologia (preferencje odczynu wody, jej zasolenia, natlenienia, tolerancji ilości materii organicznej, stanu troficznego i warunków wilgotnościowych). Dane surowe analizy okrzemkowej i analizy SIMPER (wartości podobieństwa i niepodobieństwa poszczególnych źródeł) znajdują się na arkuszach Excel, w aneksach 1-3. Na podkreślenie zasługuje Aneks I, w którym zgromadzono informacje ilościowe dotyczące wszystkich spotkanych w źródłach taksonów okrzemek.

Wszystkie wyniki zostały opisane z dużą precyzją, co wskazuje na ich pełne zrozumienie przez Doktoranta. Wyniki pracy potwierdzają hipotezę Autora, że źródła wciąż posiadają istotną różnorodność gatunkową okrzemek w warunkach antropopresji. Tak szczegółowa analiza wyników wieloletnich badań ma znaczenie nie tylko naukowe ale także aplikacyjne.

W rozdziale "Dyskusja" mgr Knysak omawia wyniki w siedmiu podrozdziałach. Rozpoczyna dyskusję zagadnieniem wpływu działalności człowieka na ekosystemy źródlane. Należy zaznaczyć, że ten problem jest wciąż bardzo słabo poznany. Następnie przedstawia wyniki w kontekście środowiska abiotycznego źródeł opierając się przy tym na publikacjach kilkunastu autorów. Kolejne części dyskusji dotyczą różnorodności gatunkowej źródlanych okrzemek, ich zbiorowisk i indykacyjności oraz stopnia zagrożenia określonych gatunków. Wyniki zostały omówione głównie w kontekście prac opublikowanych w ostatnich 20 latach, od źródeł Nowej Zelandii i Kenii (Owen i in. 2008), po europejskie opracowania (Werum i Lange-Bertalot 2004, Fránková i in. 2009, Cantonati i in. 2012, Denys i Oosterlync 2015, Taxböck 2016). W Polsce tego typu badania niestety są rzadko prowadzone. Praca ta jednak została wykonana pod kierownictwem prof. Żelaznej-Wieczorek, która doskonale zna problematykę okrzemek źródlanych. Przedstawiona praca dotyczy badań indykacyjnych okrzemek. Uwzględnienie charakteru źródeł i cech fizycznych i chemicznych wody są konieczne do porównania cech wskaźnikowych organizmów je zasiedlających (Tabela 11). Główny

nacisk badań Doktorant położył na badania wpływu środowiska abiotycznego (oddziaływanie antropogeniczne) na kształtowanie struktury badanych zbiorowisk okrzemek 12 źródeł Polski Środkowej. Proszę zauważyć, że metody autekologiczne wciąż opierają się na powszechnie stosowanej klasyfikacji Van Dama i in. (1994) i na programie OMNIDIA. Bez tych badań jednak byłyby niemożliwe zastosowanie bardziej zaawansowanych metod (PCA, analiz klastrowej i SIMPER) i ich właściwej interpretacji. Spośród 278 taksonów okrzemek aż 34 zostało wyszczególnionych na czerwonej liście glonów Polski. Wśród nich 9 gatunków, w tym *Navicula striolata*, okrzemka znaleziona we wszystkich źródłach, należy do glonów zakwalifikowanych do grupy taksonów wymierających. Ostatnią częścią Dyskusji jest ochrona środowiska przyrodniczego źródeł. Stanowi ona ważny wkład w rozpoznanie statusu ekologicznego źródeł, a równocześnie dostarcza cennych informacji dotyczących formy ich ochrony – jako ekosystemów specjalnej troski.

W Podsumowniu i wnioskach doktorant przedstawia najważniejsze rezultaty swojej rozprawy doktorskiej: szacowanie nasilenia oddziaływania człowieka na ekosystemy źródeł, parametry cech wody będące wskaźnikami wpływu człowieka, różnorodność gatunkową okrzemek źródłanych i szacowanie warunków ekologicznych na podstawie autekologii okrzemek. Streszczenie w języku polskim i angielskim zawiera najważniejsze wyniki badań 9 źródeł czwartorzędowych i trzech źródeł trzeciorzędowych województwa łódzkiego. Jedną z cech źródeł jest ich względna stabilność warunków fizycznych i chemicznych. Cecha ta pozwoliła na występowanie wielu rzadkich okrzemek w tych ekosystemach. Jednak antropogeniczne działania związane z rolnictwem, urbanizacją i turystyką zaburzają niestety tą naturalną, abiotyczną równowagę źródeł. Odpowiednio interpretując posiadane wyniki badań można skutecznie upowszechnić wiedzę o ogromnej roli źródeł jako refugium wielu gatunków okrzemek.

Rozprawę mgr Knysaka kończą Podziękowania i Literatura, w której zawarto spis około 200 pozycji literaturowych cytowanych w rozprawie. Literatura zastosowana przez mgr Knysaka obejmuje zarówno prace polskie (ok. 1/4) jak i obcojęzyczne. Ostatnim rozdziałem pracy jest dokumentacja fotograficzna (8 plansz z 212 fotografiami) i Aneksy (II i III).

2. Uwagi krytyczne

W trakcie lektury rozprawy doktorskiej Pana Piotra Knysaka nasunęły się pewne uwagi:

- Tabela 2 (Teren badań) informuje o wynikach szacowanej antropopresji,
- w Materiałach i Metodach mamy zdanie: „zebrano 8 prób z każdego z wytypowanych miejsc poboru prób”. Czy te próby były łączone później do przygotowania preparatów?
- we fragmencie dotyczącym odczynu wody (Wyniki) podano (str. 50) najniższą wartość pH, odnotowaną w źródle Bukowa Góra (6,3). W Tabeli 7, w mamy jeszcze niższą wartość (6,2) dotyczącą wód w Kochlewie. To samo dotyczy podania maksymalnej wartości przewodnictwa elektrolitycznego na str. 52 – wyższa wartość przewodnictwa niż Łagiewnikach ($470 \mu\text{S cm}^2$) była w Wolbórcie ($577 \mu\text{S cm}^2$) i Wardzynie ($480 \mu\text{S cm}^2$),
- Tabela 7 dostarcza cennych danych dotyczących wyłącznie ekstremalnych wartości badanych czynników. Szkoda, że pełne dane pochodzące z poszczególnych zbiorów materiału nie zostały

przedstawione np. w apendiksie. W zamian, mgr Piotr Knysak przedstawił na rycinie 19, zakresy wahań i mediany wartości poszczególnych parametrów i na tej podstawie zaprezentował wyniki,

- na Ryc. 22 (str. 56) błędnie zaznaczono kolory gatunków dominujących i subdominujących,
- na stronie 108 istnieje rozbieżność minimalnych wartości niepodobieństwa w porównaniu z apendiksem II,

- analizowane próby (KO280800 KO270801 i TR190601) były bardzo słabo zasiedlone przez okrzemki. Jako takie nie powinny być analizowane metodami statystycznymi. Np. względna liczebność np. *Navicula oblonga*, rzadkiego gatunku, obecnego w źródle Kochlew, wyrażona udziałem procentowym na Ryc. 92, wskazuje na 100% udział tej okrzemki w próbce zebranej w lipcu 2001 roku. Tymczasem znaleziono w niej kilka osobników tego gatunku. Szczęśliwie ta próba została wyłączona z analiz klasterowej i MDS a przy prezentacji tolerancji warunków siedliskowych zamieszczono odpowiednią adnotację,

- Plansza II zawiera dwa zdjęcia *Eunotia paludosa* – błąd techniczny,
- drobne, dostrzeżone przez recenzenta uchybienia techniczne pracy przekazano bezpośrednio Doktorantowi.

3. Uwagi końcowe

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Piotra Jerzego Knysaka 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 Piotra Jerzego Knysaka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora oraz wyróżnienie pracy.

Agata Wojtal

Dr hab. Agata Wojtal prof. IOP PAN